



**JOSIANA
ADELAIDE VAZ**

**Metodologias de detecção de vestígios biológicos
forenses**



**JOSIANA
ADELAIDE VAZ**

**Metodologias de detecção de vestígios biológicos
forenses**

dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Biologia Molecular e Celular, realizada sob a Orientação científica do Doutor Luís Souto Miranda, Assessor do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro e Co-orientação de Doutor António Carlos Matias Correia, Professor Associado com Agregação do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro.

o júri

presidente

Doutora Maria de Lourdes Gomes Pereira,

Professora Associada com Agregação, Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro

Doutor Francisco Manuel Andrade Corte Real Gonçalves

(arguente principal), Professor Associado, Faculdade de Medicina,
Universidade de Coimbra, Largo da Sé Nova, 3000-213 Coimbra

Doutor António Carlos Matias Correia

Professor Associado com Agregação, (co-orientador), Departamento de
Biologia da Universidade de Aveiro

Doutor Luís Manuel Souto de Miranda,

Assessor (orientador), Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro

agradecimentos

Este espaço é dedicado àqueles que deram a sua contribuição para que esta dissertação fosse realizada. A todos eles deixo aqui o meu agradecimento sincero.

Em primeiro lugar agradeço ao Prof. Doutor Luís Souto a forma como orientou o meu trabalho. As notas dominantes da sua orientação foram a utilidade das suas recomendações, a cordialidade com que sempre me recebeu e a paciência, por tudo estou muito grata.

Em segundo lugar, agradeço às minhas colegas e companheiras de Mestrado, de Licenciatura, de Amizade, enfim da Vida: Maria João Guedes e Amélia Rodrigues, sem elas não teria conseguido e não seria quem sou.

Gostaria ainda de agradecer ao Bruno Queirós e à sua família. O Bruno que sempre me acompanhou e esteve disponível para ouvir os meus desabafos de tristeza e desespero bem como as minhas explosões de alegria, sem ele, eu era uma “estrangeira em Chaves”.

Sou muito grata a todos os meus familiares pelo incentivo recebido. Aos meus pais, Maria e Manuel, ao meu irmão Ivo e ao Jhony, obrigada pelo amor, alegria e atenção sem reservas. Este trabalho é por eles e para eles.

Finalmente, gostaria de deixar três agradecimentos muito especiais, à Elisa, à Ana Sofia e à Sofia. Às minhas três meninas que não desistiram de colocar um sorriso no meu rosto, e conseguiram. Obrigada pela noite de sono perdida.

O meu profundo e sentido agradecimento a todas as pessoas que contribuíram para a concretização desta dissertação, estimulando-me intelectual e emocionalmente.

palavras-chave

Ciência Forense, Criminalística, vestígios forenses, evidência, indício, prova, metodologia de detecção, fluorescência, fosforescência, sangue, sêmen, pêlos, dentes, saliva, ossos, urina, fezes.

resumo

O presente trabalho propõe-se rever as mais significativas técnicas e métodos de detecção de vestígios biológicos forenses. A Dissertação é composta por uma apresentação geral da Ciência Forense (conceito, breve resenha histórica, objetivos, princípios e áreas), uma exposição do Protocolo de Investigação de uma Cena do Crime e, por fim, uma compilação dos métodos de detecção gerais e específicos dos vários tipos de vestígios forenses presentes num cenário de crime. A Metodologia usada para desenvolvimento da Dissertação baseia-se na revisão teórica de uma vasta bibliografia de referência na área forense.

A escolha do tema – Metodologias de detecção de vestígios biológicos forenses como *corpus* desta Dissertação deve-se, principalmente, à constatação da importância e protagonismo da Ciência Forense na actualidade, bem como a inexistência de uniformização de procedimentos nas várias Polícias Científicas no mundo.

Contemporaneamente, a Ciência Forense vem recebendo valiosa atenção tanto por académicos, cientistas, especialistas nas mais diversas áreas, como por simples curiosos que em nada estão associados à Criminalística. A popularidade da ciência forense está no auge, assim como a discussão dos seus métodos e potencialidades. Existem inúmeros métodos e técnicas associadas à detecção de amostras biológicas na cena de um crime, embora os seus princípios de aplicação estejam baseados sobretudo em fenómenos de Fluorescência, Fosforescência, Imunocromatografia e Precipitação. Estes são métodos fundamentados na Biologia e Bioquímica podem ser vistos como uma triagem inicial dos vestígios com a vista à identificação específica por análise de DNA na Genética Forense, embora forneçam muitos mais resultados fundamentais à investigação.

Independentemente dos métodos utilizados pelos especialistas forenses, o grande objectivo da investigação é a identificação positiva do perpetrador e a resolução do crime.

keywords

Forensic Science, Criminalistic, trace, evidence, methods of detection, fluorescence, phosphorescence, blood, semen, hair, teeth, saliva, bone, urine, feces.

abstract

This paper proposes to revise the most significant techniques and methods of detection of biological forensic traces. The Dissertation is composed of an overview of Forensic Science (concept, historical summary, objectives, principles and areas), an exhibition of the Protocol for the Investigation of a crime scene and, finally, a compilation of methods to detect general and specific the various types of forensic traces in a crime scene. The methodology used for development of Dissertation based on the theoretical review of a vast bibliography of reference in the forensic field.

The choice of theme - Methodologies for detecting traces of biological forensic corpus as this Dissertation is due, mainly, the finding of the importance and role of Forensic Science at present, as well as the lack of uniformity of procedures in several Forensic Science.

Contemporaneously, the Forensic Science has received valuable attention both by scholars, scientists, specialists in several areas, such as by simply curious that in no way are associated with the Criminalistics. The popularity of forensic science is at its height, as well as the discussion of its methods and potential. There are numerous methods and techniques associated with the detection of biological samples at the scene of a crime, although the application of its principles are based mainly on phenomena of fluorescence, phosphorescence, immunochromatographic and precipitation. These methods are based on the biology and biochemistry are nothing more than a trace of initial screening with a view to identifying specifically for analysis of DNA in Forensic Genetics.

Regardless of the methods used by forensic experts, the major focus of research is the positive identification of the perpetrator and the resolution of crime.

Índice

ÍNDICE DE FIGURAS	10
NOTA INTRODUTÓRIA	12
1. CIÊNCIA FORENSE	15
2. CENA DO CRIME	35
3. VESTÍGIOS BIOLÓGICOS FORENSES.....	43
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	133

Sumário

ÍNDICE DE FIGURAS	10
NOTA INTRODUTÓRIA	12
1. CIÊNCIA FORENSE	15
1.1. Ciência Forense, conceito.....	15
1.2. Ciência Forense, história	15
1.3. Ciência Forense: objetivos, princípios e características	20
1.4. Ciência Forense, vestígio, evidência, indício e prova	23
1.5. Idoneidade do vestígio	25
1.6. Áreas da Ciência Forense.....	27
1.7. Referências bibliográficas	30
2. CENA DO CRIME.....	35
2.1. Cena do crime, Protocolo da investigação forense	35
2.2. Cadeia de custódia	39
2.3. Referências bibliográficas	40
3. VESTÍGIOS BIOLÓGICOS FORENSES	43
3.1. Métodos gerais de detecção de vestígios biológicos na cena do crime.....	43
3.1.1. UTILIZAÇÃO DE FONTES DE LUZ.....	43
3.1.1.1. Alguns exemplos de aparelhos de detecção	46
3.1.2. FOTOGRAFIA DIGITAL	50
3.1.3. TECNOLOGIA LASER	51
3.2. Vestígios biológicos forenses: o Sangue	54
3.2.1. SANGUE, CONSTITUIÇÃO E FUNÇÕES	54
3.2.2. ESTUDO FORENSE DO SANGUE	55
3.2.2.1. Análise macroscópica e colheita	55
3.2.2.2. Testes presuntivos	56
3.2.2.2.1. Reações de cor: Reagente de Kastle-Meyer	57

3.2.2.2.1. Reacções de cor: Reagente de Adler-Ascarelli ou Benzidina	59
3.2.2.2.1. Reacções de luminescência: Reagente de Luminol.....	60
3.2.2.2.1. Reacções das Oxidases	70
3.2.2.3. Testes confirmatórios	70
3.2.2.4. Testes específicos ou de origem	72
3.2.2.5. Testes de identificação individual	75
3.3. Vestígios biológicos forenses: os Pêlos.....	77
3.3.1. ESTUDO FORENSE DO PÊLO.....	78
3.3.1.1. Biologia do pêlo	79
3.3.1.2. Formação e crescimento do pêlo	80
3.3.1.3. Características morfológicas	81
3.3.1.4. Pêlos: colheita e armazenamento	89
3.3.1.5. Exame do Pêlo	92
3.3.2. CONCLUSÃO	96
3.4. Vestígios biológicos forenses: o Sémen	97
3.4.1. BIOLOGIA DO SÉMEN	98
3.4.2. ANÁLISE FORENSE DO SÉMEN	100
3.5. Vestígios biológicos forenses: os Dentes	106
3.5.1. DETERMINAÇÃO DO SEXO	107
3.5.2. DETERMINAÇÃO DA ORIGEM ÉTNICA	108
3.5.3. DETERMINAÇÃO DA IDADE	109
3.5.4. MARCAS DE MORDIDA	110
3.5.4.1. Estudo das Marcas de mordida	110
3.6. Vestígios biológicos forenses: a Saliva.....	113
3.7. Vestígios biológicos forenses: os Ossos	117
3.8. Outros vestígios biológicos forenses	121
3.9. Referências bibliográficas	123
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	133

Índice de figuras

Figura 1-1 – Retrato de Zacharias Jansen	16
Figura 2-1 – Processo de evidência física	35
Figura 3-1 - Representação esquemática do fenómeno de Fluorescência.	44
Figura 3-2 - Cabeça de luz azul BMT e os óculos âmbar	46
Figura 3-3 - Fotografia de fragmentos de ossos humanos e dentes	47
Figura 3-4 - Detecção de Fluidos corporais, saliva sobre ganga.	47
Figura 3-5 - Detecção de Fluidos corporais, sémen num lençol de cama.....	48
Figura 3-6 - Detecção de Fluidos corporais, urina num lençol de cama.	48
Figura 3-7 – HandScope e Mini-CrimeScope	49
Figura 3-8 – Lanternas BLUEMAXX™	50
Figura 3-9 – Fotografias com uso de fontes de luz alternativas.....	51
Figura 3-10 – Exemplo de um aparelho que usa a tecnologia laser	52
Figura 3-11 – Exemplo de um aparelho que usa a tecnologia laser.	53
Figura 3-12 - Constituintes do sangue	54
Figura 3-13 – Reações referentes ao reagente de Kastle-Meyer.....	58
Figura 3-14 – Representação da hemoglobina e do complexo 'heme' da hemoglobina.	59
Figura 3-15 - Reagente de Benzidina e o produto de coloração azul.	60
Figura 3-16 – Síntese do Luminol	61
Figura 3-17 - Exemplo de um ambiente sem e com luminol	62
Figura 3-18 - Mecanismo esquemático da oxidação de luminol	63
Figura 3-19 – O Espectro Electromagnético.....	64
Figura 3-20 – Kit de reagente BlueStar ®	65
Figura 3-21 – Procedimento de utilização do reagente BlueStar ®	66
Figura 3-22 – Um exemplo prático do uso do reagente BlueStar ®.....	66
Figura 3-23 – Superfície de cerâmica pulverizada com BlueStar ®.....	67
Figura 3-24 – Superfície de cerâmica pulverizada com Luminol.....	67
Figura 3-25 – Camisa de algodão pulverizada com BlueStar ® após lavagem.....	68
Figura 3-26 – Camisa de algodão pulverizada com Luminol após lavagem.	68
Figura 3-27 – Carpete pulverizada com BlueStar ®.....	69
Figura 3-28 – Carpete pulverizada com Luminol.....	69
Figura 3-29 – Cristais de Teichmann.	71
Figura 3-30 - Cristais de Takayama	71
Figura 3-31 – Teste imunocromatografico Hexágono OBTI®	74
Figura 3-32 - Corte transversal de pele onde é visível a estrutura do pêlo	79
Figura 3-33 – Folículo piloso.....	80
Figura 3-34 – Secção transversal de um pêlo	81
Figura 3-35 – Bulbo do pêlo.....	82
Figura 3-36 – Microfotografia de pêlo com Medula contínua e clara.....	84
Figura 3-37 – Microfotografia de pêlo com Medula contínua e opaca.....	84
Figura 3-38 – Microfotografia de pêlo com Medula interrompida.	84
Figura 3-39 – Microfotografia de pêlo com Medula vacuolarizada.....	85
Figura 3-40 - Microfotografia de um pêlo onde é visível a distribuição dos grânulos de pigmentos	86
Figura 3-41 – Microfotografia de pêlo humano.....	86
Figura 3-42 – Padrão da cutícula de pêlo humano e pêlo animal.....	87

Figura 3-43 - Ilustração da preparação da lâmina.	93
Figura 3-44 - Espermatozóide.....	99
Figura 3-45 - Esquematização do estudo do sémen	100
Figura 3-46 - Esquema ilustrativo do método de ELISA	104
Figura 3-47 - Exemplo de espectofotômetro de fluorescência	114
Figura 3-48 - Célula do epitélio bucal.....	114
Figura 3-49 - RSID resultados possíveis.	115
Figura 3-50 - Canais de Havers.	118

Nota Introdutória

Esta Dissertação insere no campo da pesquisa actual em Ciência Forense, mais propriamente na área da Criminalística Forense abordando especificamente as metodologias de detecção de vestígios biológicos – Programa de Mestrado em Biologia Molecular e Celular da Universidade de Aveiro – Departamento de Biologia, e foi realizada entre os anos 2007 e 2008.

Actualmente, a Ciência Forense recebe valiosa atenção tanto por académicos, cientistas, especialistas nas mais diversas áreas como por simples curiosos que em nada estão associados à Criminalística, a sua popularidade está no auge. Esta ciência tem se tornado, cada vez mais, uma parte vital da Justiça Criminal. Como parte integrante desta ciência, a Medicina Legal ocupa um lugar de valor inestimável e as suas perícias de laboratório são indispensáveis na identificação do corpo de delito, principalmente quando os vestígios biológicos forem sangue, esperma, pêlos, saliva, entre outros.

Essas perícias abrangem uma grande diversidade de análises. Para isso, valem-se de princípios da Bioquímica, Serologia e principalmente da Química e Imunologia.

Além do reconhecido protagonismo e importância da Ciência Forense no presente foi a constatação da escassez de material bibliográfico, que reunisse informações e técnicas relativas a essas investigações, bem como da inexistência de uniformização de procedimentos nas várias Polícias Científicas do mundo que foram os principais motivos para a escolha do tema – Metodologias de detecção de vestígios biológicos forenses como *corpus* desta Dissertação.

Esta Dissertação destina-se a estudantes e profissionais da Justiça, da Medicina Legal, da Criminalística, Especialistas e Peritos de Laboratório e até aos simplesmente interessados em saber mais sobre esta ciência.

Além de poder ser considerado como uma espécie de manual de perícias laboratoriais têm como objectivo orientar e familiarizar os leitores quanto às várias técnicas existentes, bem como os seus resultados e limitações.

Para isso foi realizada uma profunda e completa revisão bibliográfica de revistas, publicações da área e manuais e recomendações técnicas de laboratórios forenses de referência.

CAPÍTULO 1 – CIÊNCIA FORENSE

1. Ciência Forense

1.1. Ciência Forense, conceito

A palavra vem do latim **forense** (legal - que significa "antes do fórum") e refere-se a algo "relativo a, ou utilizado num tribunal de direito." Nos dias de hoje, refere-se quase sempre a um método de obtenção de provas criminais para fins de utilização de um juiz de direito.

Segundo a Polícia Judiciária Portuguesa (Disponível em: www.policiajudiciaria.pt, acesso a: 12 de Março de 2008), a Ciência Forense é um conjunto de componentes ou áreas, entre as quais a medicina legal, antropologia e a entomologia, que em conjunto, actuam de modo a resolver casos de carácter legal. Há então que referir que a Ciência Forense não é uma ciência única. Esta está dependente de todas áreas que sejam necessárias em casos específicos.

Assim, a Ciência Forense resulta da interacção entre várias ciências aproveitando os seus campos de acção e conhecimentos com o objectivo de resolver determinado delito.

1.2. Ciência Forense, história

A Ciência Forense apresenta-se com uma história de caminhos que se cruzam, afirma Lombroso Cesare (1924).

Nos últimos anos, o interesse do público pela Polícia Científica e tudo o que lhe está associado cresceu de forma espantosa. O facto de saber como se conduz um inquérito criminal para determinar os motivos e os autores de um crime desperta a curiosidade de muitos.

Esta ciência, tal como a entendemos hoje, nasceu na China antiga. É surpreendente que existam documentos do Séc. XVII que comprovam que um milhar de anos antes, Ti Chieh Yen ficou conhecido por usar a lógica e as evidências forenses para resolver uma série de crimes ocorridos no Séc. VII. O que Ti e os seus colaboradores fizeram foi estudar a cena do crime, analisar as pistas e falar com testemunhas e suspeitos. Obviamente, os

métodos e instrumentos que tinham não podem ser comparados com os de hoje, no entanto, a atitude e o cuidado que colocava em cada um dos seus trabalhos de investigação é um exemplo a seguir tantos séculos depois.

No século XIII, na China, foi publicado um livro que explicava como reconhecer sinais de afogamento, estrangulamento, ou como as feridas podiam revelar qual o tipo, tamanho e qual a arma utilizada no crime.

A Ciência Forense deve grande parte do arsenal de instrumentos e métodos à ciência ocidental dos séculos **XVI a XVIII**. Em meados do século XVII já se ministrava medicina forense em várias universidades da Europa. O instrumental que foi surgindo progressivamente da revolução científica foi aplicado rapidamente na luta contra o crime. O microscópio, inventado por Zacharias Jansen em 1590, permitiu obter imagens de objectos impossíveis de observar à vista desarmada, a Ciência Forense utilizou-se praticamente desde o seu aparecimento.



Figura 1-1 – Retrato de Zacharias Jansen.

Alguns dos pressupostos da investigação criminal baseiam-se na identificação dos agentes do crime, dos instrumentos por eles usados e dos sinais apresentados na vítima, permitindo assim reconstituir o acto criminal.

Henry Goddar foi o pioneiro a associar **uma bala com a arma utilizada**. Desde os finais do século XVIII que a fabricação em série das armas de fogo implicou algumas alterações na produção das almas das armas (a parte oca do interior do cano da arma, que vai desde a culatra até a boca do cano). A partir daí as almas passaram a possuir linhas ou sulcos que diferiam entre as diversas armas produzidas, assim cada arma tinha uma alma com sulcos diferentes, estes sulcos ficam gravados na bala quando a arma é disparada permitindo através da bala a identificação da arma, foi o início da Balística.

Em 1796, o Dr. Franz Josef Gall, desenvolveu a **Frenologia**. Esta ciência estudava as formas estruturais do crânio associadas às aptidões e capacidades intelectuais dos indivíduos. A Frenologia foi reformulada quando, em 1876, Cesare Lombroso, director do

Asilo de Pesaro, situado ao norte de Itália, publicou "*L'uomo delinquente*". Após ter estudado mais de 6.000 casos de delinquentes, Lombroso fez um exaustivo estudo (com mais de 6000 delinquentes) e concluiu que existia uma **correlação entre as características físicas do indivíduo e as suas tendências criminosas** (por exemplo: os pirómanos tinham a cabeça pequena, os salteadores de caminhos eram muitos cabeludos e os burlões costumavam ser fortes). Estas **correlações foram levadas muito a sério pelos tribunais da época** e os frenólogos eram considerados como peritos em Tribunal. Felizmente a Frenologia, comentada hoje em dia como exemplo de **pseudo-ciência**, foi perdendo adeptos, até desaparecer definitivamente.

A partir destas ideias um pouco mirabolantes, Alphonse Bertillon extraiu uma premissa interessante: as medidas corporais podiam ter alguma utilidade podendo ser usadas para identificar com precisão um delinquente. Por uns actos históricos infelizes as ideias de Bertillon tiveram um escasso momento de glória e rapidamente caíram no esquecimento. Os seus fundamentos não foram retomados até à invenção do **retrato falado**, em que se descrevia a cara do delinquente segundo as suas porções: frente, nariz, queixo, orelhas e olhos. Nos anos 50 do século passado a técnica tornou-se obsoleta com o **Identikit**, o **Photofit** e os **arquivos computadorizados**, os herdeiros modernos de Bertillon.

Em 1815 Mathieu Orfila converteu-se no pai da toxicologia ao publicar o livro intitulado "*Traité des Poisons*", uma classificação dos venenos mais comuns usados por peritos criminais. A partir de esse momento muito se evoluiu. Por exemplo, o químico inglês James Marsh desenvolveu uma técnica "infalível" para detectar vestígios de arsénio. O arsénio é especialmente fácil de detectar porque permanece nas unhas e no cabelo depois da morte. A lista de venenos manuseados pelos cientistas forenses é muito extensa, por exemplo: cicuta (*Conium maculatum*), aconitina (acetilbenzoilaconina), atropina, estricnina, tálio, antimónio, arsénio, cianeto, *Amanita phalloides* são alguns venenos conhecidos popularmente.

O acto de fotografar a cena do crime, é fundamental na reconstituição do delito, permite ainda a documentação dos vestígios aí existentes no local do crime e nas próprias vítimas. A importância da fotografia só foi reconhecida por Thomas Byrnes, em 1886. Este recolheu várias fotografias de delinquentes e publicou-as de "fotos de rufiões". Esta colecção de fotografias revelou-se de crucial importância no reconhecimento e identificação dos criminosos, sendo um auxiliar à actuação da polícia.

Actualmente a prática de reconstrução facial de restos ósseos é da responsabilidade da Antropologia forense. O anatomista Wilhelm His e o escultor Carl Ludwig Seffner em 1894 foram os primeiros a desenvolver a técnica, ao reconstruir os restos mortais do crânio do compositor Johann Sebastian Bach (1685-1750). A sua tarefa foi bem sucedida uma vez que quando comparada a reconstrução com retratos do músico pintados em vida, foi possível demonstrar a sua autenticidade.

O século XIX foi sem dúvida revolucionário no que se refere às ciências forenses. Patrizi, contemporâneo de Lombroso, desenhou o **primeiro detector de mentiras**: a luva volumétrica. O aparelho consistia numa luva de látex, selada ao nível do punho, que registava as **alterações da pressão sanguínea**, supostamente associados à tensão emocional. Mais tarde veio a confirmar-se a pouca fiabilidade deste método, mas sem dúvida que foi um instrumento pioneiro dos actuais detectores e dos diversos sistemas criados para comprovar a veracidade de declarações de interrogados.

“Problemas-mito” da Ciência Forense

A exactidão, no sentido lato da palavra é difícil de atingir em qualquer ciência, originando “problemas-mito”. Por exemplo em Biologia existem várias teorias em relação à origem da vida em biologia, a própria matemática, a física, todas as ciências apresentam mitos e teorias defendidas por uns e contestadas por outros.

A Ciência Forense não é excepção, também tem questão “mal-resolvidas”. Ainda hoje existem crimes por resolver, pode-se destacar o exemplo de Jack “o estripador”. Na década de 1880, este assassino em série cometeu inúmeros crimes em Londres e actualmente são defendidas várias hipóteses sobre as aspirações que o levaram a cometer tais crimes (OWEN, 2000).

Tempos modernos

A Ciência Forense acompanha a evolução da tecnologia. Actualmente a detecção de drogas e tóxicos utiliza métodos extremamente aprimorados, entre eles: cromatografia gasosa, cromatografia líquida de alta pressão ou de filtração no gel, espectrómetros de massa. A dificuldade da escassa quantidade da amostra também foi ultrapassada pelo uso técnicas de ensaio imunológico, baseadas no desenvolvimento de anticorpos que reagem com as substâncias pesquisadas.

No que diz respeito aos vestígios biológicos forenses propriamente ditos, o exame forense deste tipo de amostras teve o seu início no princípio do século XX com a aplicação dos grupos sanguíneos ABO em evidências relacionadas a crimes ou à identificação de pessoas. Hoje, os grupos sanguíneos eritrocitários, como os sistemas ABO, Rh (CcDEe) e MNSs, foram substituídos na maioria dos centros, sendo pouco utilizados (BONACCORSO, 2004).

Marcando uma segunda fase na evolução desta ciência, em 1954, foi demonstrada a ocorrência de um sistema de histocompatibilidade mediado por antígenos na superfície dos leucócitos, conhecido por complexo HLA (*histocompatibility leucocyte antigen*), determinado por genes alélicos muito próximos localizados no braço curto do cromossoma 6, com

acentuado poder de discriminação individual ou determinação da individualidade genética (BAR et. al., 1999).

A terceira fase do desenvolvimento das ciências forenses voltadas à identificação humana veio com a publicação de um artigo na Revista *Nature*, por Jeffreys e seus colaboradores (1985b), sobre certas regiões de minissatélites do genoma humano que produziam uma espécie de “impressões digitais” de DNA.

A tipagem molecular de material genético foi utilizada oficialmente pela primeira vez, em 1985, por Jeffreys, na Inglaterra para a resolução de um problema de imigração (JEFFREYS et. al., 1985a). Um ano após, o mesmo autor empregou esta técnica para identificar o verdadeiro violador e assassino de duas vítimas. A partir deste caso, que ficou conhecido como *Enderby* (*Queen v. Pitchfork*), a Criminalística e a Medicina Legal ganharam novo fôlego e têm usado a técnica de tipagem molecular de DNA como potente arma no esclarecimento de diversos delitos e na identificação humana (MOURA-NETO, 1998).

Uma vez que o "crime" é, infelizmente, quase tão antigo como a humanidade, a história desta ciência não poderia ser curta. Sem dúvida, os grandes avanços na tecnologia, software, análise de evidências biológicas (identificação do DNA algo que significou uma verdadeira “revolução”) permitiram à polícia científica melhores meios para levar a cabo o seu trabalho, de tal modo que afecta directamente o sucesso da sua investigação. Assim, novos tempos, novos criminosos, novas técnicas forenses.

1.3. *Ciência Forense: objectivos, princípios e características*

A Ciência Forense centra-se na reconstrução de eventos únicos respondendo às questões – **Como aconteceu? O que aconteceu? Onde e quando aconteceu e quem esteve envolvido?**

Segundo Monter (2008) reconhecem-se cinco **objectivos** gerais da Ciência Forense:

1. **Investigar tecnicamente e comprovar cientificamente** a existência de um facto em particular.

2. **Determinar** os fenómenos ocorridos e **reconstruir** a mecânica do acto, identificando os objectos e instrumentos de execução, bem como as manobras de execução do acto.

3. **Detectar evidências**, coordenar técnicas e sistemas para a **identificação** da vítima e dos presumíveis autores.

5. **Detectar e identificar evidências** para comprovar o grau de participação dos envolvidos no delito, tanto vítimas como suspeitos.

Princípios básicos

"Não há unidade na Ciência Forense" (GAUDETTE, 2000). Esta é uma visão ampla, os próprios cientistas forenses vêem esta ciência meramente como uma **aplicação de conhecimentos generalizados de outras ciências**, ignorando qualquer princípio ou teoria a ela subjacente. Este facto é comprovado pelos vários cientistas forenses como bioquímicos e ou químicos.

Assim, quando a Acusação apela a um cientista forense a Defesa opta pela opinião de um químico, bioquímico ou geneticista considerada como mais qualificada. Os próprios cientistas forenses em tribunal deveriam pensar que auto-qualificar-se como cientistas forenses é a melhor opção e questionar activamente as qualificações de outros cientistas para aprontar provas ou detectar evidências (ROBERTSON e VIGNEAUX, 1995).

Cada crime ocorre em diferentes circunstâncias e são afectadas por uma enormidade de variáveis não replicáveis. Acresce o facto da Ciência Forense usar **amostras muito limitadas**, tanto em quantidade como em qualidade e com uma história desconhecida ou mesmo irreconhecível. Adicionalmente, os processos legais impõem constrangimentos e características únicas à Ciência Forense, portanto a Ciência Forense necessita de

“descrever” os seus próprios princípios.

Reconhecidas as dificuldades da Ciência Forense no que se refere à sua unidade, Monter (2008) definiu **4 princípios** básicos da Ciência Forense:

1. **Princípio da troca.** Em 1910 o francês Edmund Locard observou que todo o criminoso deixa uma parte si na cena do crime e leva algo consigo, deliberadamente ou inadvertidamente. Em termos gerais, sempre que dois objectos entram em contacto um com o outro haverá sempre uma transferência de material entre eles. Assim, a análise destes indícios pode levar à sua identidade.

2. **Princípio da correspondência.** Estabelece a relação entre os indícios e o autor dos factos. Por exemplo, se duas impressões digitais da mesma pessoa são detectadas numa arma quando foram disparadas dois projecteis pela mesma arma.

3. **Princípio da reconstrução dos factos.** Para deduzir a partir dos elementos encontrados na cena do crime, como ocorreu o acto.

4. **Princípio de probabilidade.** Deduz a possibilidade ou impossibilidade de ocorrência de um fenómeno com base no número de características observadas.

Outros cientistas forenses identificam apenas três princípios fundamentais, a sua definição é frequentemente confundida com o acima exposto: Princípio de uso; Princípio de produção; Princípio da segurança/certeza (ENCYCLOPEDIA OF FORENSIC SCIENCES, 2000).

Será a Ciência Forense uma ciência subjectiva?

Será a Ciência Forense uma ciência objectiva? O dicionário define “objectivo” como “isento ou independente de sentimentos pessoais, opinião, preconceito, etc.”. Para que formar um Parecer ou uma opinião é necessário o total conhecimento das circunstâncias do caso, esta é a chave para uma correcta **interpretação** dos factos, etapa considerada a base da Ciência Forense. Também deve ser levado em conta que todas as amostras forenses são de certa forma imprevisíveis aos protocolos analíticos padronizados

Finalmente, como já foi referido a Ciência Forense preocupa-se essencialmente com a reconstrução de eventos únicos. O uso da estatística permite alguma objectividade à Ciência Forense.

A subjectividade desenvolveu uma conotação negativa no mundo moderno, mas é necessário relembrar que o valor da objectividade, tal como da beleza, está na mente de quem o realiza. Além disso, a fronteira entre objectividade e subjectividade é, em si mesmo subjectiva. Para ser verdadeiramente objectivo, é necessário ignorar a experiência passada e o contexto (ENCYCLOPEDIA OF FORENSIC SCIENCES, 2000).

A experiência passada e as circunstâncias do caso são factores que os cientistas forenses usam como grande vantagem na formação de uma opinião perita. Os cientistas forenses devem ser objectivos, no sentido da **imparcialidade**, e dando a devida importância às hipóteses alternativas. No entanto, deve ser lembrado que o objectivo da Ciência Forense só pode existir num quadro de julgamento subjectivo.

Criminalística Forense

A ciência e a tecnologia têm um papel fundamental na investigação, detecção e identificação da prova material, com vista à identificação dos agentes do crime. O conjunto dos princípios científicos e métodos técnicos aplicados na investigação criminal, para provar a existência de crime e o "*modus operandi*", é afinal o cerne de uma área de conhecimento designada por Polícia Científica, ou melhor, **Criminalística Forense**. No entanto, há uma necessidade premente no sentido de uma abordagem introdutória à Criminalística num contexto global, interdisciplinar e transdisciplinar (ANES, 1991). Assim Criminalística Geral é vista como a ciência que se ocupa dos princípios metodológicos **de explicação e interpretação da evidência física, apoiados pela estatística e probabilidade**. O'Brien e Sullivan, (1978) vão mesmo ao ponto de identificar a **Criminalística Geral** com a designação de **Ciência Forense**.

De acordo com a definição de Villanueva Cañadas (1996), "Criminalística é a ciência que estuda os **indícios** deixados no local do delito, graças aos quais se pode estabelecer, nos casos mais favoráveis, a identidade do criminoso e as circunstâncias que concorreram para o referido delito".

Segundo Pinheiro (2008), o interesse médico-legal da criminalística reside no facto de se procurar **vestígios** anatómicos, biológicos ou humorais que permitam **estabelecer a identidade** do autor do crime. Todavia, os referidos vestígios encontrados na cena do crime são de natureza muito diversa e, por isso, para a sua recolha deveriam participar indivíduos especializados, designadamente, polícias, médicos, peritos em balística e impressões digitais e técnicos do laboratório onde são efectuados os exames, ou indivíduos com informação suficiente de forma a fazerem a colheita e o acondicionamento dos vestígios nas melhores condições.

1.4. *Ciência Forense, vestígio, evidência, indício e prova*

Os conceitos de **evidência**, **vestígio**, **indício** e **prova** são vulgarmente usados no nosso quotidiano, sem que se faça uma correcta distinção entre estes vocábulos, assim torna-se importante esclarecer o significado de cada um deles.

Numa investigação criminal, aquando do exame do local do crime, são detectados **objectos, marcas, ou sinais** que puderam estar ou não associados ao delito em questão, estes são designados de **vestígios**.

No entanto somente **quando os peritos procederem a todas as análises e exames complementares estarão habilitados a determinar quais os vestígios que verdadeiramente estarão relacionados com o crime** em questão.

Para que um destes elementos seja considerado um vestígio é necessário: o **agente provocador**, o **suporte** e o **vestígio** em si. Assim sendo, o vestígio é produzido pelo agente provocador da acção num determinado objecto ou local (suporte) (ESPÍNDULA, 2006).

Desta forma conclui-se que o vestígio é tudo o que esta presente na cena do crime.

Apesar da ampla compreensão técnica da palavra **vestígio** para a criminalística, o seu significado pelo Dicionário da Língua Portuguesa é “impressão que o homem ou o animal faz com os pés no local por onde passa; pisada; marca; rasto; pegada; sinal de coisa que sucedeu”.

O vestígio passa a denominar-se **evidência** quando é provado através de exames complementares que de facto está associado com o crime.

A evidência, segundo definição do Dicionário da Língua Portuguesa, é: “qualidade ou carácter do que é evidente, que é incontestável, que todos podem ver ou verificar, certeza manifesta”. Por sua vez, na criminalística, **evidência significa qualquer material, objecto ou informação que está relacionado com a ocorrência do delito**.

À medida que a investigação progride para a fase processual, estas duas nomenclaturas (**vestígio** e **evidência**) passam a denominar-se no meio judicial, de **indícios**.

Segundo Espíndula (2006):

- *Vestígio* é todo objecto ou material bruto detectado e/ou recolhido no local do crime para análise posterior.
- *Evidência* é o vestígio depois de feitas as análises, onde se constata técnica e cientificamente a sua relação com o crime.
- *Indício* é uma expressão, utilizada no meio jurídico, que significa cada uma das informações (periciais ou não) relacionadas com o crime.

Apesar destas diferenciações conceituais entre as três expressões, é comum observarmos a utilização indistinta das **três palavras** como se fossem **sinónimos**.

O conceito de **prova** é esclarecido no Decreto-Lei n.º 48/2007¹ do Código de Processo Penal, que define **objecto da prova** como: “todos os factos juridicamente relevantes para a existência ou inexistência do crime, a punibilidade ou não punibilidade do arguido e a determinação da pena ou da medida de segurança aplicáveis. Se tiver lugar pedido civil, constituem igualmente objecto da prova os factos relevantes para a determinação da responsabilidade civil.”

¹ Decreto-Lei n.º 48/2007, de 29 de Agosto 15.^a alteração ao Código de Processo Penal, aprovado pelo Decreto -Lei

1.5. *Idoneidade do vestígio*

A **Idoneidade** não é mais do que a garantia de o vestígio mantêm as características necessárias para que possa tornar-se prova em Tribunal. Estas garantias são da responsabilidade de todos os intervenientes no processo (policias, especialistas forenses, entre outros).

A importância da idoneidade justifica a necessidade de seguir um protocolo rigoroso na abordagem ao vestígio. Este protocolo engloba a constatação, o registo, a identificação, exames e análises necessárias para obtenção de prova. Uma vez que pode **comprometer todo o trabalho** e, com isso, **prejudicar o conjunto da investigação criminal e do processo judicial posterior**.

Muitos investigadores falham no modo como abordam a investigação de um crime, pelo simples facto de não capitalizarem o enorme potencial da **evidência** (prova material). O investigador, para atingir os seus intentos de modo pleno, deve reflectir sobre:

- 1 - que tipo de evidência se trata;
- 2 - como a obter e preservar;
- 3 - como obter a informação que ela encerra (elaboração dos quesitos);
- 4 - como interpretar a informação obtida (relatórios de peritagens).

A “**evidência**” pode ter forma e dimensões muito variáveis. Pode ser constituída por armas, alavancas de ferro, fragmentos de engenhos explosivos, mas também, e o mais frequente, é ser constituída apenas por vestígios de impressões digitais, pegadas, cabelos, pelos, vidros partidos, marcas de ferramentas, fragmentos de tinta, sangue, esperma, saliva, solo, fibras, etc., que o criminoso deixa ou com ele transporta, tornando-se tudo isto em testemunhas silenciosas.

A “**evidência**” é factual, não se perjura a si própria e que nunca está completamente ausente. Só na sua interpretação pode haver erro, ou a incapacidade humana em encontrá-la e estudá-la nos seus contornos mais voláteis, lhe pode diminuir o seu valor.

Muito se fala sobre a importância do **exame pericial**, considerado no seu sentido amplo. Todavia, devemos levar em consideração que essa importância está relacionada ao somatório de pequenas partes de todo o conjunto dos exames periciais.

O **exame pericial** num **local de crime** divide-se numa série de rotinas e procedimentos, em que a relevância representada por cada uma das fases deste exame pericial, no contexto da valoração da idoneidade do vestígio, é que é a matéria-prima.

Neste sentido é importante que o perito tenha em atenção a possibilidade de existência de **vestígios verdadeiros, ilusórios e ou “forjados”** e a capacidade de os

distinguir eficazmente, a sua análise do local do crime é de fundamental importância para o sucesso da perícia.

Vestígios verdadeiros

O **vestígio verdadeiro** é uma depuração total dos elementos encontrados no local do crime, pois somente o são aqueles **produzidos directamente pelos autores da infracção** e, ainda, que resultem directamente das acções do delito em si (ESPÍNDULA, 2006).

Para entendermos o que seriam esses vestígios da acção directa do delito, pode dizer-se que, p. ex., se o agressor coloca uma arma de fogo na mão da vítima para simular situação de suicídio, este é um vestígio “**forjado**” e, portanto, não se trata de elemento produto da acção directa do delito em si.

Vestígios ilusórios

Alberi Espíndula (2006) define vestígio ilusório como todo elemento encontrado no local do crime que não esteja relacionado com as acções dos actores da infracção e desde que a sua produção **tenha ocorrido de maneira não intencional**.

A produção de vestígio ilusório no local de crime é muito grande, tendo em vista a **problemática da falta de isolamento e preservação do local**. Este é o maior factor da sua produção, pois contribuem para isso desde os populares que transitam pela área de produção dos vestígios, até os próprios elementos das polícias pela sua falta de conhecimento das técnicas de preservação do local do crime.

Vestígios “forjados”

Por vestígio forjado entende-se todo elemento encontrado no local do crime, cujo autor teve a **intenção de produzi-lo**, com o objectivo de **modificar** o conjunto dos elementos originais produzidos pelos autores da infracção (ESPÍNDULA, 2006) tentando ludibriar os peritos e assim alterar o normal decurso da perícia criminal podendo por até em causa toda a investigação e a identificação dos responsáveis pela infracção.

1.6. Áreas da Ciência Forense

Dependendo do tipo de casos e das características do meio em que são cometidos, a equipa de investigadores varia, sendo constituída por especialistas nas mais diversas áreas como as que aqui estão referidas. Por exemplo:

- **Antropologia**
- **Entomologia**
- **Ondotologia**
- **Patologia**
- **Psicologia**

Apesar destas serem as áreas que mais vezes são requeridas em investigação, há que referir que por exemplo áreas como a Meteorologia ou Engenharias podem ser necessárias.

Antropologia Forense

A **Antropologia Forense** é a aplicação da Antropologia e da Osteologia (Estudo do Esqueleto humano) em situações em que **o corpo já está bastante decomposto**. Os antropologistas forenses ajudam na identificação de cadáveres que se encontrem ou decompostos, ou mutilados, ou queimados ou que sejam impossíveis de reconhecer por diversas outras razões podendo desvendar a idade que tinham quando morreram, a sua altura, sexo, tempo decorrido desde a morte, doenças e lesões traumáticas para determinar a causa da morte do indivíduo quer seja suicídio ou homicídio.

Entomologia Forense

A **Entomologia Forense** consiste no estudo de insectos, aracnídeos, crustáceos e muitos outros tipos de animais com propósitos forenses. Esse estudo irá permitir descobrir a data e local da morte ao serem analisados os animais encontrados na vítima bem como os ovos que podem ter depositado nesta. Além disso como certos insectos são específicos a

uma determinada estação do ano ou clima será uma prova bastante conclusiva em tribunal em relação à data e local da morte bem como para desmentir diversos falsos álibis.

Odontologia Forense

A **Odontologia Forense** consiste na análise e avaliação de provas com carácter dentário podendo desvendar a idade das pessoas (caso sejam crianças devido à dentição de leite) e a identidade da pessoa a que pertencem os dentes. Outro tipo de provas dentárias pode ser as marcas de mordeduras deixadas na vítima ou no assassino (devido a uma luta) ou num objecto deixado na cena do crime. Essas 38 marcas são também frequentemente encontradas em crianças que tenham sido vítimas de abusos sexuais.

A **Odontologia Forense** tem no entanto sofrido as críticas de diversos especialistas que acreditam que esta não merece o carácter infalível com que é vista pois a comparação de marcas de mordeduras é sempre subjectiva não havendo bases para comparação que tenham sido aceites no campo dessa medicina. Não se procedeu também a nenhuma experiência rigorosa como forma de calcular as percentagens de erro dessa mesma comparação, uma parte chave do método científico.

Esta área da Ciência Forense compreende diversos ramos de intervenção que vão desde a avaliação do dano orofacial pós-traumático (no âmbito da clínica médico-legal do direito penal, civil ou do trabalho), até à identificação de indivíduos mortos ou à identificação de agressores, através das marcas de mordida (MAGALHÃES, 2003).

Patologia Forense

A **Patologia Forense** que se confunde com a **Tanatologia Forense** é a área da Ciência Forense mais preocupada em determinar a **causa da morte de uma vítima**. O médico patologista, partindo do exame do local, da informação acerca das circunstâncias da morte, e atendendo aos dados do exame necrópsico ou autopsia médico-legal à vítima, procura determinar: a identificação do cadáver, o mecanismo da morte, a causa da morte, o diagnóstico diferencial médico-legal (acidente, suicídio, homicídio ou morte de causa natural).

Santos (2003) afirma que “à **Tanatologia Forense** interessa desde logo o exame do local, as circunstâncias que rodearam a morte, interessa também uma informação clínica o mais detalhada possível com referência ao resultado de exames complementares, interessa o estudo minucioso do cadáver e os exames complementares que se entendam realizar no decurso da autópsia, por forma a poder-se elaborar um relatório que será enviado à

autoridade judicial que requisitou a autópsia”.

Psicologia Forense

A **Psicologia Forense**, apesar de não ter grande importância na descoberta do assassino vai ser extremamente importante para determinar o motivo por trás do comportamento de um criminoso e em certos casos descobrir uma sequência nos seus actos. Será também extremamente importante em tribunal de forma a determinar a culpa ou inocência de um suspeito sendo algumas vezes decisiva. Muitos advogados de defesa tentam salvar os seus clientes alegando que estes possuem problemas mentais ou que são insanos e é à psicologia que cabe o papel de verificar se isso é verdade ou mentira.

1.7. Referências bibliográficas

ANES, J. - Uma Introdução à Criminalística Química. Princípios; Problemas e Tendências. Rev. Inv. Crim. São Paulo. Editora Saraiva. Nº 35 (1991) p. 25 – 27.

Antropologia e Odontologia Forenses: Medicina Legal/Toxicologia Forense. Magalhães, T. Porto: Edição Faculdade de Medicina da Universidade do Porto. 2003.

BAR, W. [et al.] - DNA recommendations further report of the DNA Commission of the ISFH regarding the use of short tandem repeat systems. Int. J. Forensic Med. [s.l.]. International Society for Forensic Haemogenetics [Editorial]. v.110, Nº 4 (1997) p.175-6.

BONACCORSO, N. - Análise Forense de DNA. São Paulo: Editora Fittipaldi, 2.^a Edição, 2004.

Criminalistics: Theory and Practice. O'Brien, K. P.; Sullivan, R. C. London: Holbrook Press, Allyn and Bacon, Inc., [1978].

DNA technology in forensic science: Commission on Life Sciences. Committee on DNA technology in forensic science, National Research Council. Washington: National Academy of Science, [1993].

Do Conceito de Prova em Processo Civil. Castro-Mendes. Lisboa: Ática Limitada, [1961].

Encyclopedia of Forensic Sciences. Jay Siegel, Geoffrey Knupfer, Pekka Saukko. Vol. 3, nº 1-3. Amsterdam: Elsevier Academic Press, [2000].

Forensic Science Education: or How Do We Foster Quality. Margot, P. [S. l.: s. n.], [1994].

Handbook of forensic services: evidence examinations – DNA general. Federal Bureau of Investigation (FBI). New York: U.S. Department of Justice, [1998].

JEFFREYS, A.; BROOKFIELD, J.; SEMEONOFF, R. Positive identification of an immigration test-case using human DNA fingerprints. Nature. Londres: [S.l.]. Vol. 317 (1985a) p.818-9.

JEFFREYS, A.; WILSON, V; THEIN, S. - Hipervariable “minisatellite” regions in human DNA. Nature.

Londres: [S.l.]. Vol. 314 (1985b) p. 67-73.

Dicionário da Etimológico da Língua Portuguesa. Machado, J. 1110ª ed. Vol. 1, Lisboa: Círculo de Leitores, Lda. [1985].

KIRK, P. - Crime Investigation. Physical Evidence and the Police Laboratory. Interscience Publishers, Inc., New York, [s.n.] (1960).

L'uomo delinquente: in rapport all antropologia alla giurisprudenza eo alle discipline carcerarie. Lombroso, C. Torino: Fratelli Bocca, [1924].

M-CSI Criminal. Pinheiro, M. Porto: Edições Universidade Fernando Pessoa, [2008].

MONTER, P. – Introducción a la Criminalística de campo y de Laboratorio. Ciencia forense.cl rev on line de criminalística. [S. l.: s. n.] (2008).

MOURA-NETO, R. - A Investigação de Crimes Sexuais através do Estudo do DNA. Rev. Panorama da Justiça [S. l.]: 10 (1998).

Perícia criminal e Cível. Espíndula, A. 2ª ed. São Paulo: Milenium Editoria, [2006].

RUDRAM, D. A. - Interpretation of Scientific Evidence. Science & Justice [S. l.: s. n.]. 36: 133 (1996).

“Tanatologia Forense”. Santos, A. Porto: Edição Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, [2003].

VILLANUEVA CAÑADAS, E. ACOSTA, M. ACOSTA J.- La tecnología del ADN en Medicina Forense: Importancia del indicio y del lugar de los hechos. Cuadernos de Medicina Forense. [S. l.: s. n.]: 3 (1996).

VILLANUEVA CAÑADAS, E. ACOSTA, M. ACOSTA J.- La medicina clínica ante los indicios criminales biológicos y la identificación genética. Med Clin. Barcelona: [s.n.]. 102: 115 (1994).

CAPÍTULO 2 – CENA DO CRIME

2. Cena do crime

Segundo Villanueva Cañadas (1996) “A **cena do crime** é o lugar relacionado com a acção do crime a determinada altura e que deve ter deixado algum vestígio ou sinal do agressor ou algumas das características do acto”.

2.1. Cena do crime, Protocolo da investigação forense

A mecânica de investigação do local do crime parece simples, mas na verdade é um processo intrincado que relaciona múltiplas tarefas.

Segundo Rudram (1996), cada cenário de crime é diferente e pode exigir uma abordagem diferente, contudo existe um protocolo de base que deve ser respeitado em todas as cenas crime.

O trabalho de um cientista forense pode ser visto através de cinco etapas do **processo de evidência física**:



Figura 2-1 – Processo de evidência física (adaptado ENCYCLOPEDIA OF FORENSIC SCIENCES, 2000).

O referido protocolo apresenta cinco etapas na investigação da cena do crime, em que existe uma grande interligação entre os vários passos.

Se a "teoria" do caso dita que o intruso força a entrada na residência através de uma janela, em seguida, o técnico forense terá de analisar/examinar a área da janela de forma obter os padrões de calçado, as evidências das ferramentas usadas, evidências biológicas e impressões digitais latentes. Após a conclusão destes elementos de prova o técnico terá de fotografar a sua localização e possivelmente elaborar um esboço mostrando a localização exacta das provas ou, talvez, um esboço do padrão do calçado. Esta combinação de todos os passos do protocolo continuará durante toda a investigação da cena do crime.

Este protocolo deverá ser utilizado em todas as cenas crime. Se a cena do crime é um veículo roubado ou um múltiplo homicídio onde várias cenas crime estão envolvidas o protocolo básico é o mesmo.

O manuseamento posterior dos vestígios e objectos que constituem a prova material, deve ter em conta a manutenção da **cadeia de custódia**, a preservação em espécie e quantidade, e evitar qualquer contaminação com material estranho que possam confundir os elementos previamente recolhidos.

No caso de acidentes com viaturas, comboios, aviões, navios ou em destroços de indústrias sinistradas, o local da porção de material a recolher para análise pericial nos laboratórios, deve ser fotografado antes e depois da colheita da amostra tendo como referência os materiais circundantes, para se registar a sua posição exacta no contexto geral. Esta prática impede o perjúrio do local do crime em data posterior, quando novas recolhas se mostrem convenientes, face aos resultados analíticos preliminares realizados pelos laboratórios forenses.

Ocorrência da evidência

O cientista forense está envolvido em todo o processo passando por cada uma destas etapas apresentados. A fundamentação pericial só é estabelecida quando é produzida a evidência:

- quando uma assinatura é falsificada;
- quando partículas de vidro são transferidas de uma janela partida para um par de luvas descartáveis usadas por um ladrão;
- quando o sangue de uma vítima é encontrado numa faca usada como arma de crime e persiste a uma lavagem imperfeita, entre outros exemplos.

O conhecimento da ocorrência de uma evidência é crucial para o desenvolvimento do processo, e assim passar à fase seguinte.

Análise do local do crime

A análise do local do crime engloba a entrevista, o exame, a fotografia e esboço.

Entrevista

A **Entrevista** é o primeiro passo para a análise do local do crime. O técnico responsável deve entrevistar o primeiro oficial que chegou ao local ou a vítima para verificar a "teoria" do caso. Basicamente o que teria acontecido, que crime ocorreu, e como o crime foi cometido. Esta informação pode não ser a informação factual, mas dará ao técnico uma base a partir da qual se pode começar.

Exame

O **Exame** da cena de crime é a segunda etapa do protocolo. O objectivo é verificar se a "teoria" do caso é apoiada por aquilo que técnico **observa**. O exame da cena permite identificar possíveis pontos de entrada e de saída, ficando, assim, com o *layout* geral da cena do crime.

Fotografia

Fotografar a cena do crime é o terceiro passo do protocolo. Fotografando o crime para gravar uma vista pictórica daquilo que se parece com a cena e para gravar itens de eventuais provas. **Desenho** da cena do crime é a quarta etapa no protocolo. Um esboço áspero é completado pelo técnico forense para demonstrar a disposição da cena do crime ou para identificar a posição exacta de vítimas ou de provas. O esboço da cena de crime não pode ser preenchido em todos os casos, no entanto ocorre na maioria dos casos.

Colheita

A **colheita** de evidências "constrói-se" nesta base. Por vezes, a recolha de evidências é simples e directa. Por exemplo pedaços de plástico partido de um automóvel envolvido num acidente e posto em fuga; noutros tempos fazia parte da rotina prática (...)

No local do crime, a **localização e posição relativa** das evidências tem um papel fundamental na reconstituição do evento/crime, portanto é fundamental a gravação e documentação destas informações.

Análise

As evidências recolhidas têm que ser analisadas. É nesta fase do processo que a Ciência Forense entra no campo de outras ciências como a Química Analítica, Biologia Molecular, entre outras. Contudo, problemas únicos podem suceder porque os cientistas forenses lidam com **amostras ou vestígios com história desconhecida** e muitas vezes **degradadas, contaminadas** ou outros desafios ambientais.

Adicionalmente, as **quantidades recolhidas não são as ideais** que permitam métodos analíticos ou clínicos standardizados, portanto, os cientistas forenses vêem-se obrigados a criar protocolos analíticos que vão de encontro às suas necessidades/circunstâncias especiais.

Interpretação

A **interpretação** é a quarta fase deste processo, é a base da Ciência Forense. Baseado nos resultados do exame ao local o cientista forense desenha as conclusões da sua interpretação emitindo um Parecer técnico.

Para permitir uma correcta interpretação da evidência, o cientista forense sente a necessidade de possuir um completo **conhecimento do caso e de todas as circunstâncias envolventes**.

Antes considerava-se que o cientista forense deveria trabalhar isolado do resto da investigação, defendia-se que com conhecimento de todos os detalhes do crime o **cientista iria perder a objectividade**. Actualmente, é já reconhecido que a interpretação só poderá ser valorizada **quando devidamente contextualizada** (ENCYCLOPEDIA OF FORENSIC SCIENCES, 2000).

Apresentação

A etapa final de Apresentação **sumariza todo o processo de evidência física**.

A **Apresentação**, na maioria das vezes assume a forma de um **relatório laboratorial** e também pode envolver, em tribunal, depoimentos de especialistas no assunto em causa.

2.2. Cadeia de custódia

As possibilidades técnicas de realização de uma prova pericial estão sujeitas à **qualidade das amostras**, o que, em muitos casos, é inerente à própria amostra. Porém, muitas vezes, a qualidade depende dos processos de **colheita** e de **armazenamento** destas amostras até a chegada ao laboratório para análises. Acrescente-se que a **admissibilidade e a robustez das provas** nos tribunais dependem sobretudo de como foram realizados os ditos processos e do cumprimento da cadeia de custódia (SHIRO, 1998).

A **cadeia de custódia** é o processo que conduz a uma inspecção, cuidado e responsabilização da qualidade dos indícios para que fiquem salvaguardadas a sua **autenticidade** e a **integridade** em todo o processo (BONACCORSO, 2004).

Tendo sempre em conta a cadeia de custódia na prática forense fica garantido que o indício encontrado na cena do crime é o mesmo que se apresenta como prova em julgamento perante uma autoridade judicial (MONTER, 2008)

2.3. Referências bibliográficas

BONACCORSO, N. - Análise Forense de DNA. São Paulo: Editora Fittipaldi, 2.^a Edição, 2004.

Collection and preservation of evidence. Shiro, G. Louisiana: State Police Crime Laboratory, [1998].

Evidence collection guidelines. California Commission on Peace Officer Standards and Training's Workbook for the "Forensic Technology for Law Enforcement", [S.l.:s.n.], [1998].

Evidence submission. Handbook of Forensic Services. New York: FBI, [1999].

MONTER, P. – Introducción a la Criminalística de campo y de Laboratorio. Ciencia forense.cl rev on line de criminalística (2008).

VILLANUEVA CAÑADAS, E. ACOSTA, M. ACOSTA J.- La tecnología del ADN en Medicina Forense: Importancia del indicio y del lugar de los hechos. Cuadernos de Medicina Forense. [S. l.: s. n.]: 3 (1996).

CAPÍTULO 3 – VESTÍGIOS BIOLÓGICOS FORENSES

3. Vestígios biológicos forenses

A análise de vestígios (alguns definem por "traciologia"²) inclui manchas de sangue, cabelos, pêlos e outros que possam levar à descoberta de "criminosos", como sémen, saliva, urina, fezes, ossos, peças dentárias (COSTA, 2008).

3.1. *Métodos gerais de detecção de vestígios biológicos na cena do crime*

3.1.1. Utilização de fontes de luz

A Espectroscopia é a designação para toda a técnica de levantamento de dados físico-químicos através da transmissão, absorção ou reflexão da energia radiante ou luz incidente numa amostra. **Fontes de luz especiais** são usadas na área forense com a intenção de revelar indícios que não são visíveis a olho nu sob a luz ambiente. A mesma fonte de luz pode ser usada para fotografar os vestígios, ou simplesmente para indicar a sua localização física permitindo assim a sua colheita. Essas provas podem ser "invisíveis" por várias razões. Por exemplo, pode haver apenas um "rasto", como uma pequena gota de sangue ou um único cabelo. O material pode ser incolor, como uma mancha de sémen. As fontes de luz podem ser usadas para revelar essas evidências, quer por fluorescência quer por contraste. A ideia, em ambos os casos é melhorar a visibilidade do próprio vestígio e/ou tornar o fundo mais escuro quando a cena é varrida com a fonte luminosa.

A **fluorescência** é um fenómeno em que um determinado objecto absorve a luz de um determinado comprimento de onda emitindo em seguida e praticamente em simultâneo uma cor diferente. A cor emitida é sempre o vermelho. Assim, a luz é reflectida e espalhada na ausência de material fluorescente, é quase completamente obstruída, permitindo uma maior visibilidade de objectos fluorescentes. (Figura 3-1)

² COSTA, 2008

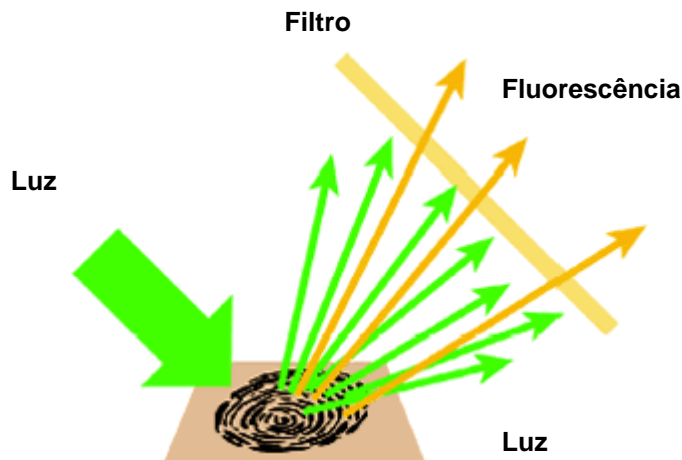


Figura 3-1 - Quando uma impressão digital ou outro vestígio fluorescente são iluminados por uma luz verde (ou azul), a fluorescência é facilmente distinguível pela luz difundida usando um filtro laranja (Guffey, 2008).

A primeira fonte de luz usada na área forense foi a chamada "**luz negra**". O formato de uma **lâmpada de luz negra** é parecido com o de uma lâmpada fluorescente, com algumas modificações importantes. As lâmpadas fluorescentes geram luz passando electricidade através de um tubo cheio de gás inerte e uma pequena quantidade de mercúrio.

Quando são electrizados, os átomos de mercúrio emitem energia na forma de fotões de luz. Eles emitem alguns fotões de luz visível, mas emitem principalmente fotões na faixa de onda ultravioleta (UV). As ondas de luz UV são curtas demais para que possamos vê-las, sendo completamente invisíveis. Desse modo, as lâmpadas fluorescentes precisam converter essa energia em luz visível. Elas fazem isso com um revestimento de fósforo ao redor do exterior do tubo.

O fósforo é uma substância **fosforescente**. Quando um fotão atinge um átomo de fósforo, um dos electrões do fósforo salta para um nível de energia mais alto, fazendo com que o átomo vibre e gere calor. Quando o electrão retorna para seu nível normal, liberta energia na forma de outro fotão. Esse fotão tem menos energia do que o fotão original porque parte da energia foi perdida na forma de calor. Numa lâmpada fosforescente, a luz emitida está no espectro visível – o fósforo emite a luz branca que podemos ver.

A **luz negra** funciona por esse mesmo princípio. Há, na verdade, dois tipos diferentes de luz negra, mas funcionam do mesmo modo:

Uma **luz negra de tubo** é uma lâmpada fluorescente com um tipo diferente de revestimento de fósforo. Esse revestimento absorve as ondas nocivas de luz UV-B e UV-C e emite luz UV-A, do mesmo modo que o fósforo numa lâmpada fluorescente **absorve a luz**

UV e emite luz visível. O próprio tubo de vidro "negro" bloqueia a maior parte de luz visível, de modo que somente a luz UV-A de onda longa, que é benigna e alguma luz visível **azul e violeta** passam por ele.

Uma **lâmpada de luz negra incandescente** é similar a uma lâmpada doméstica normal, mas usa filtros de luz para absorver a luz do filamento aquecido. Estes absorvem tudo excepto a luz infravermelha (IV) e UV-A, além de um pouco da luz visível.

Nesses dois modelos de luz, a luz UV emitida reage com o fósforo externo exactamente do mesmo modo que a luz UV dentro de uma lâmpada fosforescente reage com o revestimento de fósforo. **O fósforo externo brilha enquanto a luz UV incide sobre ele.**

Assim, a lanterna de luz negra revela, basicamente, **tudo o que contém fósforo**, ou seja, os **fluidos corporais, cabelos, fibras, entre outros vestígios**. Para os fluidos corporais, como o **sémen, a saliva e fluidos vaginais**, este **tipo de luz é o único método de revelação**. Usando um contraste com radiação visível, como por exemplo os óculos cor-de-laranja, a detecção dos vestígios é ainda mais fácil.

Para cabelos e fibras, os investigadores utilizam dois tipos de iluminação: uma luz branca muito forte oblíqua e paralela à superfície para revelar pequenos vestígios e permitir a colheita. Mas alguns fios de cabelo e fibras só aparecerão sob radiação UV, sendo mais segura a colheita.

Depois de amplamente utilizada a "luz negra" veio a "**fonte de luz alternativa**" (ALS), que era basicamente uma fonte de luz branca que emitia próximo da gama do visível e ultravioleta, adicionando alguns filtros de luz.

Mais recentemente, estes sistemas baseados na lâmpada foram substituídos pelos sistemas de segunda geração de ALS baseada em **LEDs** (*Light-Emitting Diode*). Cada LED nestes sistemas pode ser activada ou desactivada, dependendo da necessidade, assim, permite emitir mais de uma cor de diferentes comprimentos de onda.

Actualmente existem vários produtos **químicos** com a função de auxiliar os peritos forenses na investigação do local do crime. Estes químicos reagem com os vestígios de forma a torna-los visíveis facilitando a sua detecção, identificação, colheita e documentação.

3.1.1.1. Alguns exemplos de aparelhos de detecção

Existem inúmeros aparelhos utilizadores de fontes de luz alternativas comercializados actualmente. Alguns exemplos dos mais utilizados na área forense:

UltraLite™-ALS de **CAO Group INC.**, é uma fonte de luz alternativa usada para encontrar, processar, documentar e preparar a evidência forense para o processamento criminal. Permite seleccionar cabeças de luz com intensidades e filtros de luz diferentes dependendo do tipo de local de crime a investigar e quais os vestígios a detectar. Um exemplo é a **Blue-Merge Technology™ (BMT)**, uma cabeça de luz que possibilita uma combinação de vários comprimentos de onda para otimizar a investigação forense.



Figura 3-2 - Cabeça de luz azul BMT e os óculos âmbar (<http://www.ultralite-als.com/>)

Além da cabeça de luz Azul **BMT** existem outras com diferentes comprimentos de onda, a **cabeça de 405 nanómetros UV** produz luz próxima do ultravioleta (UV) – com filtros âmbar, a **cabeça de 525 nanómetros VERDE**, produz uma luz que está na porção do verde no espectro visível, é mais usada para impressões digitais, a **cabeça de 590 nanómetros AMARELA**, esta cabeça com filtro âmbar é usada para detectar fibras e pêlos, e a **cabeça de 630 nanómetros VERMELHA**.

Em ciências forenses os **comprimentos de onda mais curtos**, como 450 nanómetros (nm), são os **mais úteis na detecção** de fluidos corporais, fragmentos de ossos e dentes, marcas mordedura e hematomas. Embora os **comprimentos de onda mais longos**, como 480 nanómetros (nm), sejam mais úteis para **detectar rastos e impressões digitais**. Para proceder à detecção dos vestígios no local de crime é **necessário seleccionar um sistema de filtros de luz em vidro**.



Figura 3-3 - Fragmentos de ossos humanos e dentes, na imagem da esquerda não é usada nenhuma fonte de luz nem filtro, assim os vestígios em causa misturam-se com a areia e a gravilha; na figura da direita é a mesma imagem com a cabeça BMTTM com filtro de âmbar (<http://www.ultralite-als.com/>).

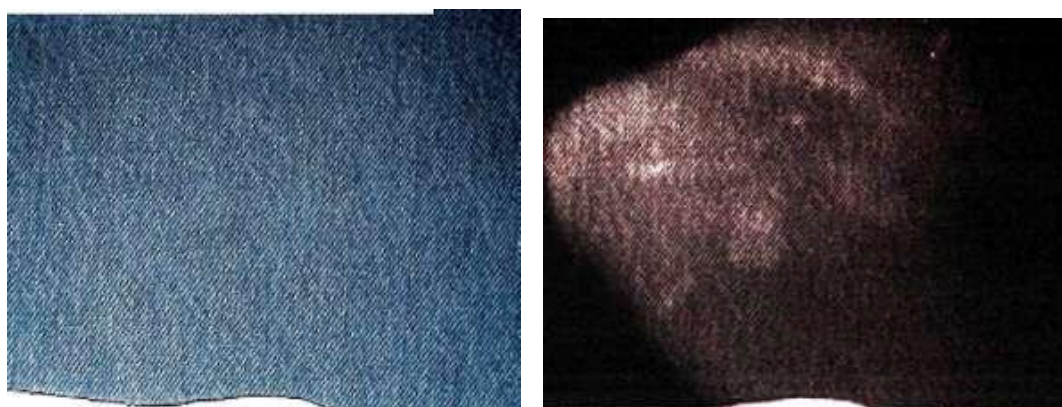


Figura 3-4 - Detecção de Fluidos corporais, saliva sobre ganga, na imagem da esquerda a mancha é imperceptível (imagem sem fonte de luz alternativa nem filtro), o vestígio é visível na imagem à direita quando usada a cabeça BMTTM com filtro de âmbar (<http://www.ultralite-als.com/>).



Figura 3-5 - Detecção de Fluidos corporais, sémen num lençol de cama, na imagem da esquerda a mancha é demasiado tênue para ser visível a olho nu (imagem sem fonte de luz alternativa nem filtro), o vestígio é visível na imagem à direita quando usada a cabeça BMTTM com filtro de âmbar (<http://www.ultralite-als.com/>).

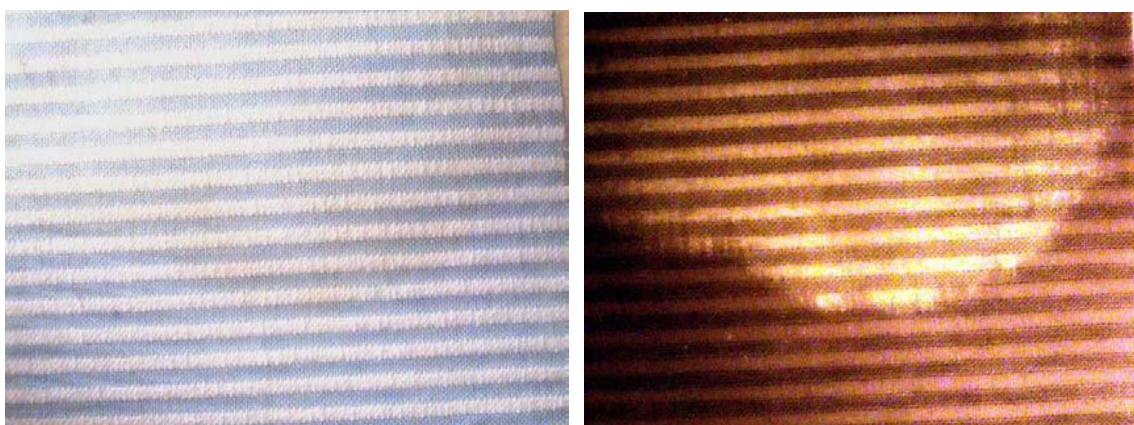


Figura 3-6 - Detecção de Fluidos corporais, urina num lençol de cama, na imagem da esquerda a mancha é demasiado tênue para ser visível a olho nu (imagem sem fonte de luz alternativa nem filtro), o vestígio é visível na imagem à direita quando usada a cabeça BMTTM com filtro de âmbar (<http://www.ultralite-als.com/>).

Sistema “Crimescope”

“O **crimescope**, ou fonte de luz de uso forense, é um instrumento precioso na busca de vestígios como pêlos, fibras, impressões digitais, amostras biológicas. A já conhecida "luz azul" usada numa cena de crime é apenas uma das muitas funcionalidades deste aparelho. Através do uso de luzes com diferentes comprimentos de onda (UV, infravermelhos, visível),

o vestígio pode ser encontrado, mesmo aqueles que o olho humano não pode ver sem o auxílio de tecnologia. **Esta fonte luminosa também é portátil e pode ser levado à cena do crime**, sem ter que remover provas do local original; que pode ser extremamente importante.” (FACT - <http://www.abqcrimelab.com/>)

CrimeScope, Mini-CrimeScope e HandScope são fabricados em Edison, NJ, E.U.A. por JY Inc. SPEX Divisão Forense.

Aplicações: detecta impressões digitais, fluidos corporais, danos da pele humana (marcas de mordida e hematomas), pegadas, resíduos humanos, fragmentos ósseos, drogas, fibras, pêlos, entre outras (<http://www.crimescope.com/>).



Figura 3-7 – Do lado esquerdo está representado um **HandScope**; do lado direito um **Mini-CrimeScope**. (www.evidentcrimescene.com/cata/spex/spex.html).

Outros exemplos de sistemas utilizadores de fontes de luz alternativa são as lanternas **BLUEMAXX™** da **SIRCHIE**. Estas lanternas portáteis são capazes de tornar fluorescentes, ou fazer com que emitam luz, certos materiais de interesse forense - incluindo fluidos fisiológicos (tais como urina, sêmen e saliva), certas drogas e materiais tratados com certos pós e corantes fluorescentes. Eles são especialmente úteis como instrumentos para localizar evidências para subsequente colheita e análise através de buscas na área do crime.



Figura 3-8 – Lanternas BLUEMAXX™ (<http://www.conecta190.com>. Acesso a 18 Setembro 2008).

3.1.2. Fotografia Digital

A recente utilização de **fotografia digital** com o uso de luz **Ultravioleta** e **Infravermelha** (UV/IR) aparece como grande ajuda aos peritos forenses. Desde a era digital por volta de 2000, cientistas e técnicos forenses na comunidade, médicos e professores universitários começaram a procurar formas criativas de adaptar esta nova tecnologia às suas áreas de investigação. Inevitavelmente, uma série de talentosos investigadores forenses virou a sua atenção para o problema da projecção digital de imagem UV/IR. Em princípio, não tanto do ponto da velocidade e da melhoria da qualidade, mas simplesmente por se tratar de um método moderno e acessível.



Figura 3-9 – Do lado esquerdo está representado uma foto da amostra “não modificada”; no lado direito está a foto da mesma amostra mas com filtros UV/IR (Disponível em: www.Fujifilm.com Acesso a : 12 de Dezembro 2007).

Na fotografia do lado direito ficam bem perceptíveis as manchas de sangue enquanto que na fotografia do lado esquerdo são praticamente invisíveis. E tudo isto é observado em tempo real, sendo assim trata-se de uma mais-valia para os peritos, permitindo-lhes a detecção e identificação de evidências físicas, incluindo pele lesionada, resíduos químicos e fibras, e manchas de vestígios biológicos.

A capacidade de observar e identificar os detalhes no escuro em contraste é também de grande ajuda em diferentes cenários de crime.

3.1.3. Tecnologia laser

A **Tecnologia Laser** é também utilizada na área forense.

Esta tecnologia permite “varrer” o local do crime à procura de diferentes tipos de evidências forense, num curto espaço de tempo, é fundamental para o sucesso de uma perícia, especialmente porque a maioria dos cenários de crime degradam-se com o tempo.

Guffey (2008) afirma que num único exame com este laser pode capturar todos os tipos possíveis de vestígios (biológicos, fibras, pêlos, etc), com maior sensibilidade e eficácia que as múltiplas buscas com filtros convencionais com alterações típicas da fonte de luz alternativa (ALS), como é o caso das câmaras digitais. Juntamente com o facto de este novo

tipo de laser ser de manuseamento fácil sem exigir grande experiência, isto significa que o local do crime pode ser processado **muito rapidamente**, com o **mínimo de pessoal** e **baixo orçamento**.

A principal vantagem do **laser** sobre as **ALS** e outras fontes é que as outras fontes de luz emitem uma grande gama de cores, já o laser emite toda a intensidade da sua luz numa única cor. Além disso, com apenas alguns watts de potência, o laser pode dar resultados **muito melhores do que uma lâmpada com um quilowatt de energia**. Igualmente importante, é que se ultrapassa a necessidade de seleccionar qual a cor e filtros e filtro a usar.

Antigamente esta tecnologia de raios laser era muito grande, pesada, cara e complexa demais para o amplo uso em medicina forense. Além disso, era necessária uma linha de energia, e muitas vezes uma fonte de água para arrefecimento. Actualmente existe laser verde e compacto, que usa **tecnologia OPS** (semicondutor de bombeamento óptico/ estabilização Óptica de Imagem). Eles produzem uma intensa luz verde, mãos livres, baterias, ferramentas, e são tão fáceis de usar como uma lanterna. Em alguns modelos, a bateria pode ser carregada novamente a partir do isqueiro do veículo e no caminho para o local do evento.

Exemplos deste tipo de tecnologia são: o laser de árgon de **SceneSweeper™** e o **Leica ScanStation 2 scanner laser**.



Figura 3-10 – Exemplo de um aparelho que usa a tecnologia laser (GUFFEY, 2008)



Figura 3-11 – Exemplo de um aparelho que usa a tecnologia laser, **Leica ScanStation 2 scanner laser** (Disponível em: www.leica-geosystems.com, acesso a: 23 Setembro 2008).

3.2. Vestígios biológicos forenses: o Sangue

O sangue é um dos vestígios biológicos **mais comuns** em qualquer cena de crime. Assim sendo o perito forense está bastante familiarizado com este tipo de vestígio, sendo um dos seus objectivos na análise da cena do crime a detecção de evidência de sangue.

Existem situações em que a mancha de sangue é evidente. Quando se localiza, por exemplo, próximo ao corpo alvejado por um disparo de arma de fogo. Contudo, há casos em que a mancha não é explícita. Existe a possibilidade, também, de que o criminoso limpe a cena do crime.

3.2.1. Sangue, Constituição e funções

Sendo responsável por cerca de 8 % (em média) da massa corporal humana, o sangue pode ser descrito como uma mistura de vários componentes, de entre eles destacam-se as células, proteínas, substâncias inorgânicas (sais) e água. Cerca de 55 % (em volume) do sangue é o que denominamos de **plasma** – constituído principalmente por água e sais dissolvidos. Os componentes sólidos são: eritrócitos, leucócitos e plaquetas com funções específicas no nosso organismo.

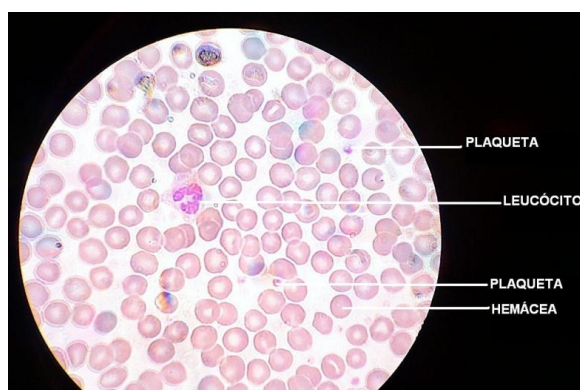


Figura 3-12 - Constituintes do sangue (Disponível em: <http://www.cienciasbiologicas.org/sangue2.jpg> acesso a 22 de Outubro de 2008).

O sangue tem inúmeras funções. De destacar o transporte dos gases, oxigénio e dióxido de carbono pelo nosso corpo. Ele medeia a troca de substâncias entre órgãos e transporta os produtos metabólicos. O sangue também distribui hormonas por todo o organismo.

A homeostasia também é função do sangue. A manutenção da temperatura corporal é realizada com sua ajuda, pois o calor é 'transportado' pelo sangue. Além disto, o equilíbrio ácido-base é regulado por ele em combinação com os pulmões, fígado e rins. Também a defesa contra agentes patogénicos e auto-protecção, fenómeno conhecido como coagulação e que evita a perda excessiva do fluido vital, são da sua responsabilidade.

3.2.2. Estudo forense do sangue

O estudo deste vestígio biológico forense é crucial na investigação de um crime. O resultado deste estudo é muitas vezes o principal responsável pela resolução de inúmeros crimes.

3.2.2.1. Análise macroscópica e colheita

As características do suporte da amostra devem ser relatadas através da sua descrição, como, por exemplo, o **material em que é confeccionado**, **cor** e **estado** de conservação. As manchas devem ser localizadas e descritas quanto ao **aspecto** e **tamanho**. Deve ser verificado se apresenta quantidade suficiente ao exame, a possibilidade de ter sido lavada, se está livre de contaminações, bem como as possíveis dificuldades quanto a sua extracção para análises de Biologia molecular. No local do crime, deve ser colhida e guardada de forma a evitar contaminação e/ou deterioração (SCHULLER et. al., 2001).

Colheita dos vestígios

- Se o sangue se encontra em estado líquido deve colhido com auxílio de tiras de papel absorvente ou **zaragatoa estéril**. As tiras devem estar **completamente secas (a temperatura ambiente)** antes de serem **guardadas em envelopes** de papel; a zaragatoa

deve colocar-se no seu suporte de transporte;

- Se o sangue estiver seco, **pode ser solubilizado em soro fisiológico**, colhido e guardado como a técnica descrita no item anterior. Outra alternativa é realizar a raspagem do suporte removendo a crosta (SCHULLER et. al., 2001).

Análises macroscópicas

- Fazer a triagem das manchas, localizando-as no suporte, no caso das manchas terem sido lavadas, utilizar, reacções de luminescência como descrito anteriormente;

- Descrever o suporte e a mancha;

- Observar se a mancha é encontrada em quantidade suficiente para as análises ou se apresenta contaminação;

- Escolher o teste a ser utilizado de acordo com as análises macroscópicas;

- As soluções devem ser testadas com controlos negativos e positivos (SCHULLER, 2001).

3.2.2.2. Testes presuntivos

Esses testes são reacções de oxidação que podem detectar a presença de sangue através de cor ou luminescência. Eles **não são específicos para sangue**, podendo dar **falso-positivo** com outras substâncias (extractos vegetais, pus, saliva e outros fluidos orgânicos nas reacções de cor e compostos de ferro e cobre nas reacções de luminescência). Porém, **a reacção negativa é excludente**. Quanto à sensibilidade, depende do tipo de teste e outros factores. Por exemplo, o tipo de tecido pode influenciar a sensibilidade, tecidos mais absorventes, devido a sua retenção, apresentam melhores resultados (SCHULLER et. al., 2001).

Reacções de cor

- Nestes testes são usados **peróxido de hidrogénio** e um reagente que funciona como indicador, pois o grupo heme actua sobre o peróxido liberando oxigénio que oxida o indicador formando um **composto corado**.

Reacções de luminescência

- As moléculas do sangue podem ser excitadas quimicamente através de fluorocromos produzindo luminescência por reacção de oxidação com o grupo heme.

Reacção das Oxidases

- Água oxigenada sobre a mancha suspeita (produz "efervescência" quando positivo).

3.2.2.2.1. Reacções de cor: Reagente de Kastle-Meyer

O reagente de Kastle-Meyer é constituído por uma mistura de substâncias. Um exemplo de proporção seria: 0,1 g de fenolftaleína, 2,0 g de hidróxido de sódio (sob a forma de *pellet*), 2,0 g de pó de zinco metálico e 10 mL de água destilada. Na **Figura 3-13** temos as reacções que ocorrem tanto no processo de **produção do reagente** como nas que ocorrem quando ele é **aplicado na suposta mancha de sangue**.

Para realizar o procedimento de detecção, macera-se a mancha ou a crosta com 1 mL de água destilada ou hidróxido de amónio concentrado. Em seguida, selecciona-se duas gotas do macerado e, após colocá-las num tubo de ensaio, misturam-se duas gotas do reagente. Por fim, adicionam-se à solução duas gotas de peróxido de hidrogénio a 5%.

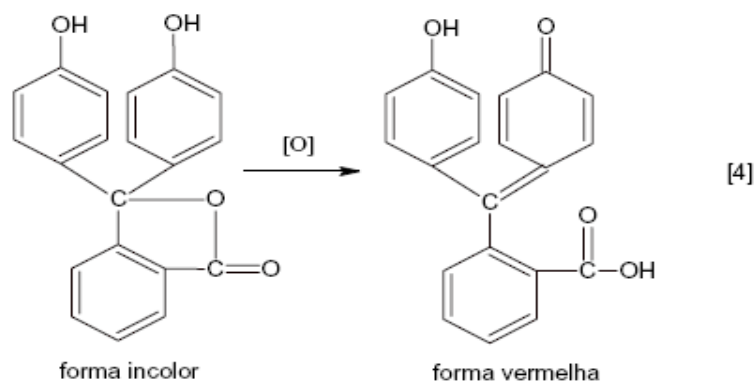
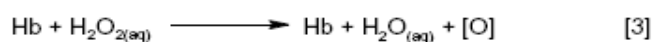
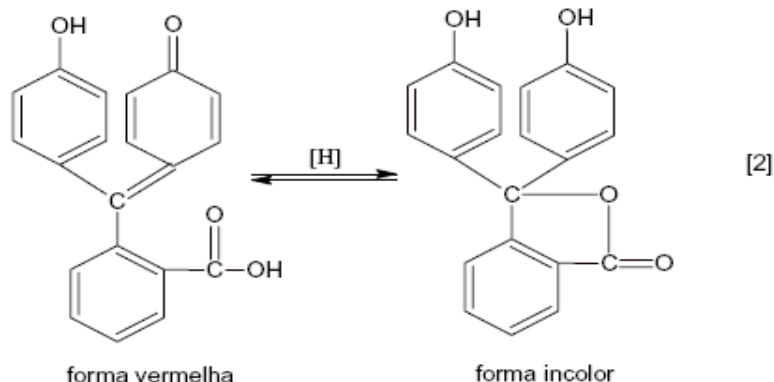
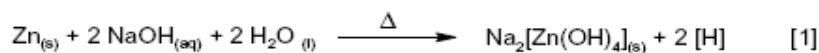


Figura 3-13 – Reacções referentes ao reagente de Kastle-Meyer (KOOLMAN e ROEHM, 2005).

Na figura anterior [Figura 3-13], em [1], temos a reacção entre o pó de zinco e o hidróxido de sódio. O produto de interesse é o hidrogénio formado, que garantirá a forma incolor da fenolfateliná [2]. Se a amostra for de sangue, esta terá, necessariamente, hemoglobina, a qual possui a característica de decompor o peróxido de hidrogénio (comportamento de peroxidase) em água e oxigénio [3]. Então, este oxigénio promoverá a forma colorida da fenolfateliná, evidenciando ao perito que a amostra pode conter sangue.

A molécula de hemoglobina está presente nos eritrócitos e carrega consigo complexos inorgânicos, tendo como átomo central um ião de ferro, complexo este denominado "Heme" (ver Figura 3-14).

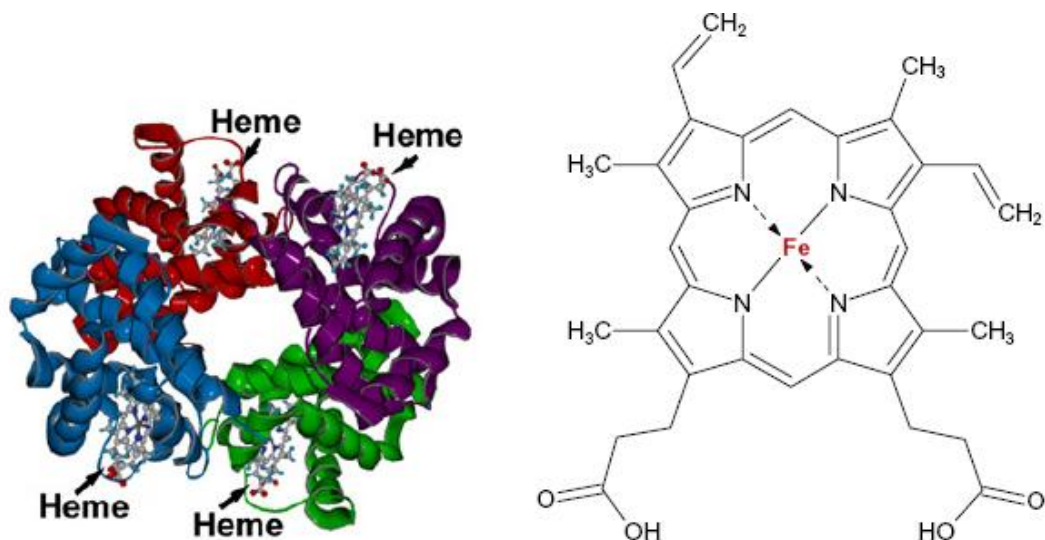


Figura 3-14 – Representação da (esquerda) hemoglobina e (direita) complexo 'heme'. (KOOLMAN e ROEHM, 2005).

Diferentemente da mioglobina, que também exerce papel no transporte de oxigénio e possui apenas um grupo “heme”, a hemoglobina possui quatro grupos. Este complexo irá ser responsável pela fixação e transporte do oxigénio, uma vez ligado à estrutura protéica da hemoglobina e esta, por sua vez, promove a movimentação de toda a estrutura. Cada hemoglobina carrega quatro moléculas de gás oxigénio por vez, visto que existem quatro complexos “heme” ligadas a ela. A ligação do complexo com o oxigénio é fraca e instável, dependendo de uma série de factores, como pH, temperatura e pressão parcial dos gases dissolvidos no sangue. É neste sítio activo com ião ferro que ocorre a decomposição do peróxido de hidrogénio.

Causas de erro no método incluem a presença de sais de ferro, cobre, suco gástrico ou qualquer outra substância capaz de decompor a molécula de H_2O_2 em água e oxigénio. A sensibilidade deste reagente é de 1/1.000.000.

3.2.2.2.1. Reacções de cor: Reagente de Adler-Ascarelli ou Benzidina

O reagente de benzidina, também conhecido como Adler-Ascarelli, é também uma mistura de substâncias. Uma proporção possível seria: 0,16 g de benzidina cristalizada, 4 mL

de ácido acético glacial e 4 mL de peróxido de hidrogénio de 3 a 5 %.

O procedimento consiste em macerar a mancha de sangue em 1 mL de água destilada ou em ácido acético glacial. Em seguida, separam-se duas gotas do macerado e adicionam-se a estas, em tubo de ensaio, duas gotas do reagente recentemente preparado.

Da mesma forma que o reagente de Kastle-Meyer, o reagente de benzidina baseia-se na catálise da decomposição do peróxido de hidrogénio em água e oxigénio pela hemoglobina presente no sangue. O **oxigénio formado irá oxidar a benzidina**, alterando-lhe sua estrutura, fenómeno que é perceptível, sob o ponto de vista experimental, com o aparecimento da **coloração azul da solução (Figura 3-15)**.

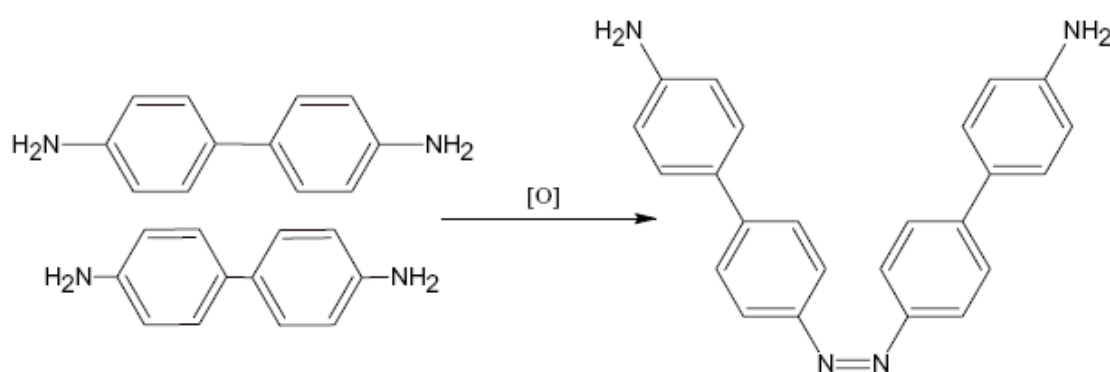


Figura 3-15 - Reagente de Benzidina e o produto de coloração azul (KOOLMAN e ROEHM, 2005).

Por se tratar de um reagente que se decompõe rapidamente em solução, recomenda-se que **a preparação do mesmo seja feita no momento em que ele será usado**. Sugere-se o teste com sangue diluído (controlo positivo) e água destilada (controlo negativo). A sensibilidade deste reagente é de 1/2.000.000 (ESPÍNDULA, 2006).

3.2.2.2.1. Reacções de luminescência: Reagente de Luminol

O **Luminol** é clássico dos exames presuntivos. O 5-amino-2,3-di-hidro-1,4-ftalazinadiona, mais conhecido por **luminol**, é um composto que, sob determinadas condições, pode fazer parte de uma reacção quimioluminescente, desenvolvido pela **Proescher & Moody**, cujo kit é fabricado pela Microchemical Specialties Co., de Berkeley, CA, USA. Uma das formas de obtê-lo é a partir do ácido 3-nitroftálico, conforme mostra a **Figura 3-16**.

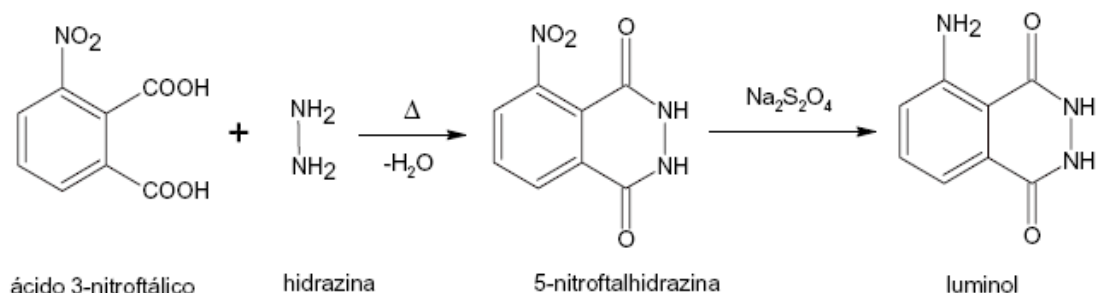


Figura 3-16 – Síntese do Luminol (KOOLMAN e ROEHM, 2005).

O luminol foi sintetizado pela primeira vez em 1853. Embora a sua capacidade para produzir uma reacção quimioluminescente, em solução básica na presença de um agente oxidante e em contacto com o sangue só tenha sido observada por Albrecht em 1928 (KOOLMAN e ROEHM, 2005).

As primeiras experiências com vista à utilização do luminol como ferramenta em Ciência Forense foram realizadas em 1937 por Spech't, que testou este reagente numa variedade de bases, como a erva, tijolos, pedras e num pano com sangue. Em 1939, a Moody e Proesher testaram a hipótese de Spech't no sangue humano e animal (KOOLMAN e ROEHM, 2005; WATKINS et. al., 2008).

Em 1951, Grodsky propõe uma mistura de pó feito de luminol, carbonato de sódio e perborato de sódio misturado com água destilada (WATKINS et. al., 2008). Esta mistura tornou-se a fórmula, que actualmente, é vulgarmente utilizada por peritos forenses para detectar vestígios de sangue na cena de um crime.

Na cena do crime nem sempre há evidências visíveis de sangue. Alguém poderia, por exemplo, limpar o local, a fim de encobrir o acontecido. Porém, o luminol reage com quantidades muito diminutas de sangue. A sua sensibilidade pode chegar aos impressionantes 1/1.000.000.000, mesmo em locais com azulejos, pisos cerâmicos ou de madeira, os quais tenham sido lavados. A eficácia do produto é tão grande que é possível a detecção de sangue **mesmo que já se tenha passado algum tempo da ocorrência do crime**. A reacção química **produzida não afecta a cadeia de DNA**, permitindo o reconhecimento dos criminosos ou das vítimas. Por isto, ele é recomendado para locais onde há suspeita de homicídio e superfícies que, aparentemente, não exibam traços de sangue (Figura 3-17).

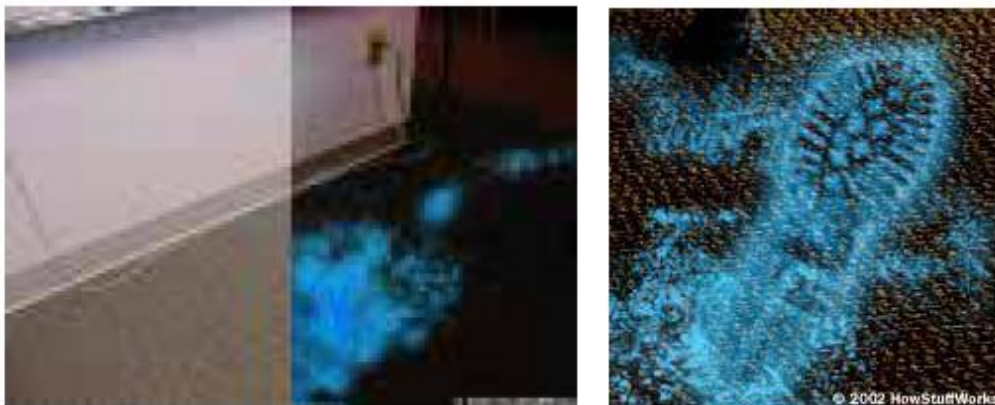


Figura 3-17 - Exemplo de um ambiente sem e com luminol (esquerda) e as marcas de um calçado realçadas pela quimioluminescência do luminol (ESPÍNDULA, 2006).

A reacção do luminol com peróxido de hidrogénio em água necessita de um catalisador redox. Uma grande variedade de metais de transição pode ser usada para este fim. No caso do teste para a presença de sangue, este catalisador é o ião do elemento ferro que está presente nos grupos “heme” da hemoglobina.

O ferro oxida o luminol [1] (veja **Figura 3-18**) em diazoquinona [2], a qual sofre a acção do anião de peróxido de hidrogénio, formando o endoperóxido [3]. Este último perde azoto (uma molécula muito estável) e forma o di-anião ácido 3-aminofáltico no estado excitado [4], o qual decai para o estado fundamental [5], processo acompanhado pela emissão de radiação por fluorescência do 3-aminofaltato com comprimento de onda de aproximadamente 431 nm.

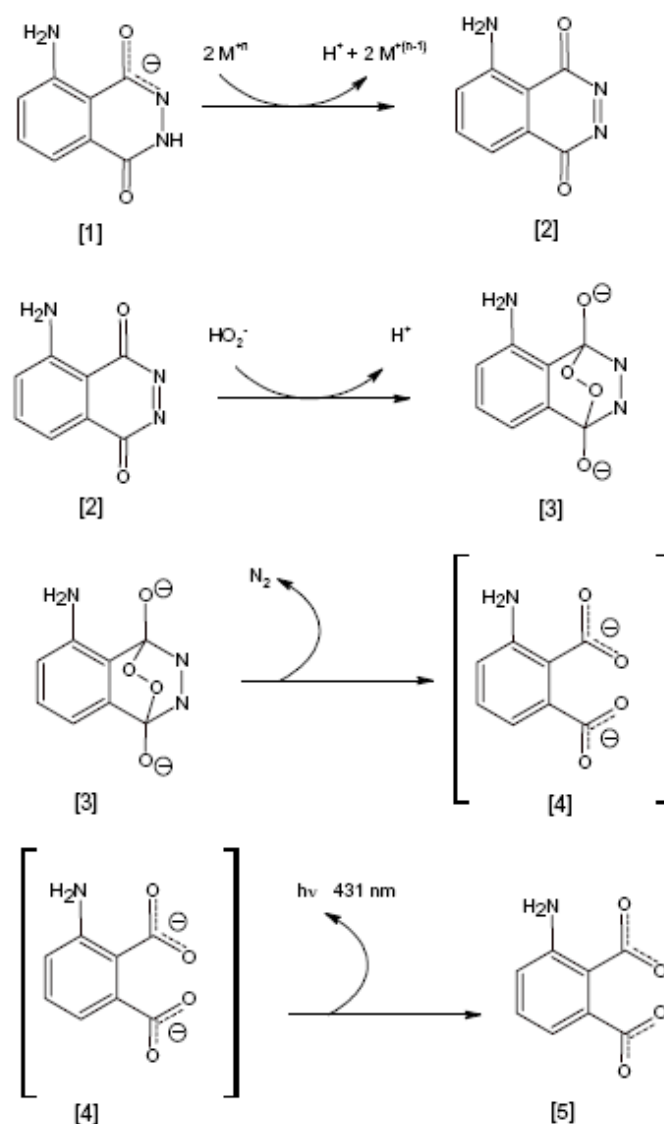


Figura 3-18 - Mecanismo esquemático da oxidação de luminol por peróxido de hidrogénio em meio aquoso, catalisado por metais de transição (Mn^+) (KOOLMAN e ROEHM, 2005).

Os humanos percebem as cores da radiação electromagnéticas pela visão, se esta estiver na estrita faixa de comprimento de onda que vai de **400 a 700 nm**, aproximadamente (**Figura 3-19**). Uma rápida observação no espectro electromagnético mostra **que a cor da luz emitida pelo processo de quimioluminescência do luminol através da oxidação com peróxido de hidrogénio é azul**. Esta cor pode variar dependendo de qual agente oxidante se utiliza. Por exemplo, usando-se dimetilsulfóxido ao invés de peróxido de hidrogénio, o comprimento de onda da luz emitida será de 502 nm, o qual está associado à cor verde.

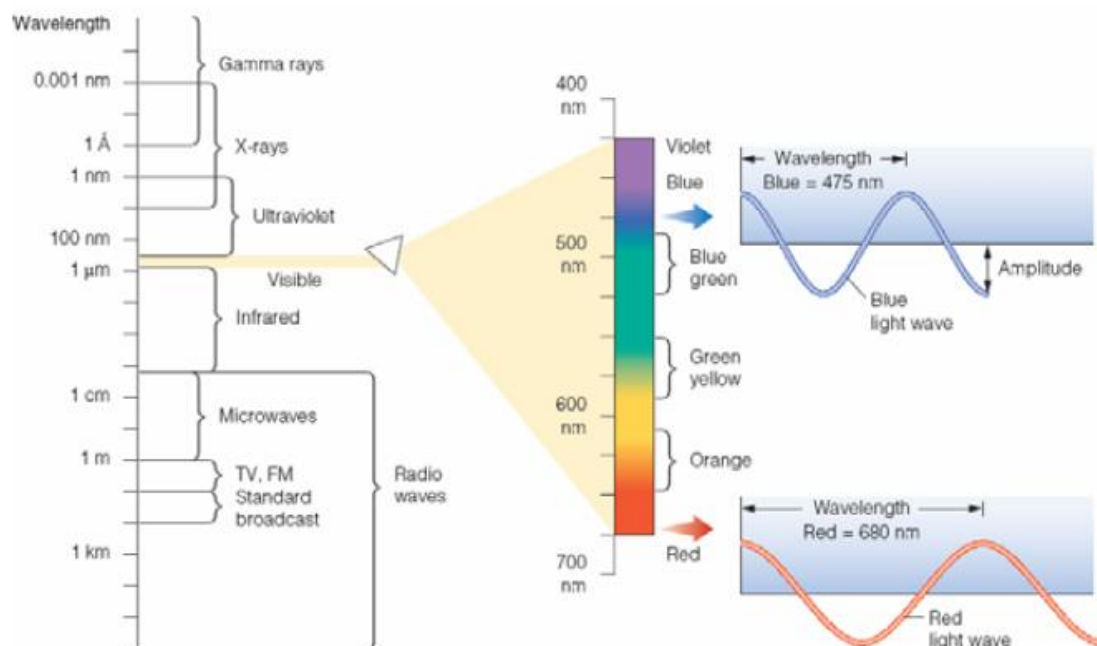


Figura 3-19 – O Espectro Electromagnético (NAIRNE, 2004).

Este reagente apresenta alguns inconvenientes, entre eles o uso de carbonato de sódio que produz uma reacção lenta no processo de oxidação da hemoglobina. Por isso, a **reacção não é muito brilhante e é de curta duração**. Além disso, uma vez que os agentes reactivos se dissolvem na água, **a vida da solução resultante é muito curta**. Esta fórmula é muito instável e é tóxica devido à presença de perborato de sódio.

Sistema Luminol da BlueStar® Forensic

Em 2000, Jean-Marc Despeaux, presidente da **BlueStar**, encarregou o Professor de bioquímica na Universidade Claude Bernard – Lyon, Dr. **Loïc Blum**, de encontrar um nova fórmula baseada no luminol **mas sem as suas muitas desvantagens**. Como resultado, Blum descobriu esta nova fórmula que mais tarde foi chamado **Bluestar® Forensic** (LEFEBVRE-DESPEAUX, 2005).

O **BlueStar®** é usado **para a detecção de sangue humano**. Esta nova formula **não danifica o DNA**, não apresenta qualquer perigo para o operador, já que não é cancerígeno e

é **biodegradável**. (GROSS et. al., 1999; BUDOWLE, 2000; LAUX, 1991).

As manchas invisíveis de sangue reagem imediatamente com o **Bluestar® Forensic** provocando uma intensa reação azulada luminescente, **visível na escuridão directamente** a olho nu, a 430nm de comprimento de onda.

Além de isto, pode ser usado em muitas superfícies, apresentando bons resultados mesmo quando tratadas com detergentes (DILBECK, 2006).

O procedimento é muito simples porém primeiro é necessário preparar as áreas suspeitas, seguindo os passos abaixo:

1 - É necessário escurecer a área.

2 - O técnico deve usar uma roupa especial para evitar a contaminação.

3 - Preparação do reagente: adicionar três pastilhas no frasco de solução líquida fornecida no kit.



Figura 3-20 – Kit de reagente **BlueStar®** (Bluestar Forensic User's Manual. ROC Import Group, Monte-Carlo. Disponível em www.bluestar-forensic.com, acesso a 23 de Outubro 2008)

4 - Alguns minutos mais tarde, o técnico tem de verificar a eficácia do produto produzido por uma amostra de sangue como controle positivo.

5 - A partir deste momento, o técnico pode usar o reagente sobre qualquer superfície.

O técnico deve usar o pulverizador a aproximadamente 50 cm da superfície. A cor azul luminescente **indica a presença de sangue**. Esta luminescência **começa a perder intensidade** depois de **um minuto** e recupera a intensidade após uma nova pulverização.

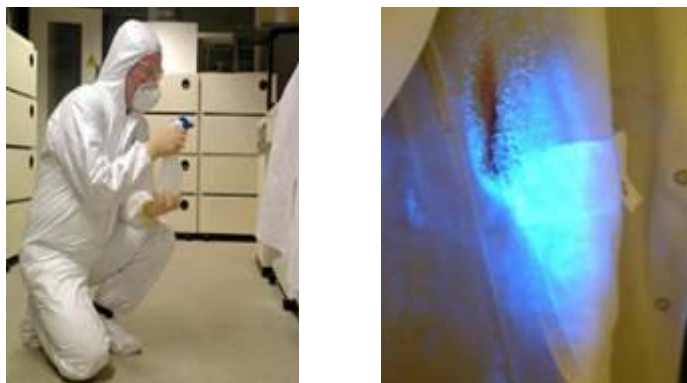


Figura 3-21 – A imagem representa o procedimento correcto de utilização do reagente **BlueStar**® (Bluestar Forensic User's Manual. ROC Import Group, Monte-Carlo. Disponível em www.bluestar-forensic.com, acesso a 23 de Outubro 2008)

Deve seguir-se o mesmo procedimento numa área sem sangue, que servirá como controle negativo.



Figura 3-22 – Um exemplo prático do uso do reagente **BlueStar**® em que houve um disparo de um tiro a partir da janela do condutor de um veículo sobre um peão. As análises foram feitas 75 dias após o assassinato. O carro foi meticulosamente limpo pelo suspeito, estacionado na rua, sob condições climáticas adversas. Através da pulverização com este reagente foi possível detectar vestígios luminescentes. Os testes confirmatórios atestaram que a amostra de sangue detectada no veículo pertencia à vítima (Bluestar Forensic User's Manual. ROC Import Group, Monte-Carlo. Disponível em www.bluestar-forensic.com, acesso a 23 de Outubro 2008).

As vantagens deste reagente sobre o Luminol são óbvias e foram feitos vários estudos que provam a maior eficácia do **BlueStar**® em detrimento do Luminol.

Concluindo, o reagente **BlueStar**® foi inventado para ser excepcionalmente melhor

que o **luminol**, uma vez que permite maior facilidade na mistura do reagente, não necessita de total escuridão e apresenta uma boa intensidade após a pulverização inicial (Dilbeck, 2006).

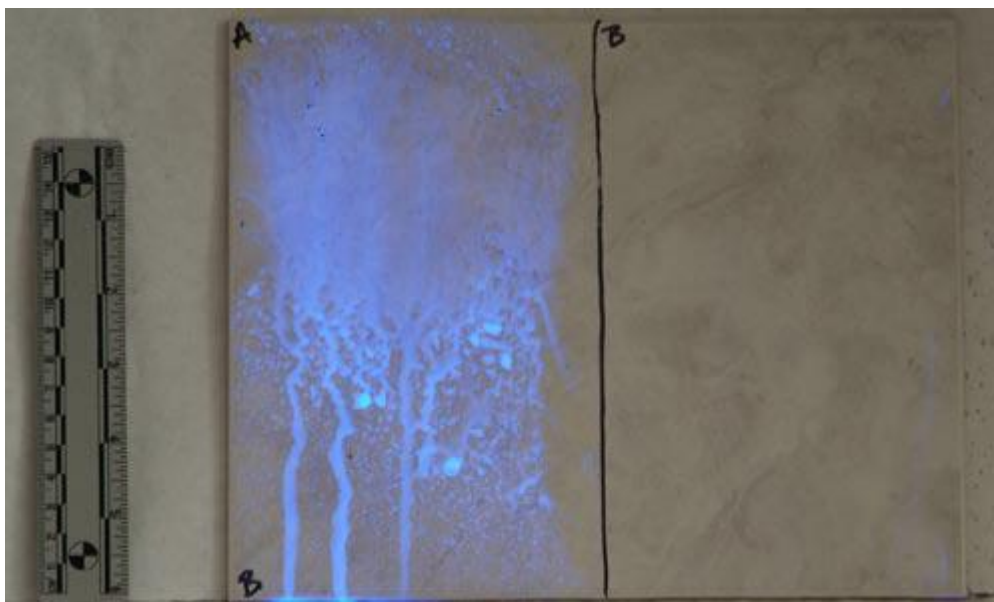


Figura 3-23 – Superfície de cerâmica pulverizada com **BlueStar**®. O lado esquerdo: o sangue foi limpo com água. Na direita: o sangue foi limpo com lixívia (DILBECK, 2006).



Figura 3-24 – Superfície de cerâmica pulverizada com **Luminol**. O lado esquerdo: o sangue foi limpo com água. Na direita: o sangue foi limpo com lixívia (Dilbeck, 2006).



Figura 3-25 – Camisa de algodão pulverizada com **BlueStar**® após lavagem (Dilbeck, 2006).



Figura 3-26 – Camisa de algodão pulverizada com **Luminol** após lavagem (Dilbeck, 2006).

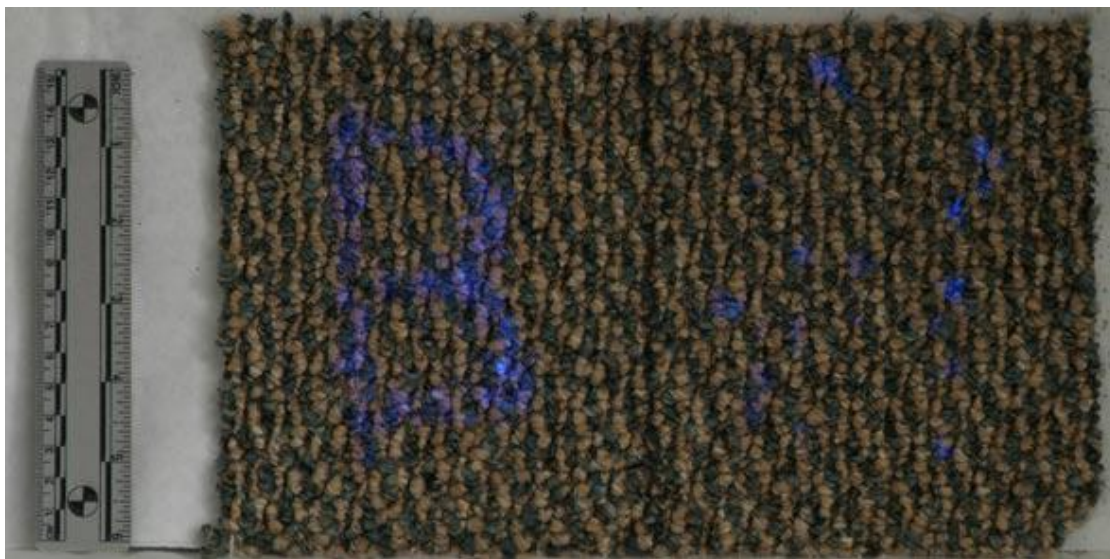


Figura 3-27 – Carpete pulverizada com **BlueStar**®. O lado esquerdo: o sangue foi limpo com água. Na direita: o sangue foi limpo com lixívia (Dilbeck, 2006).

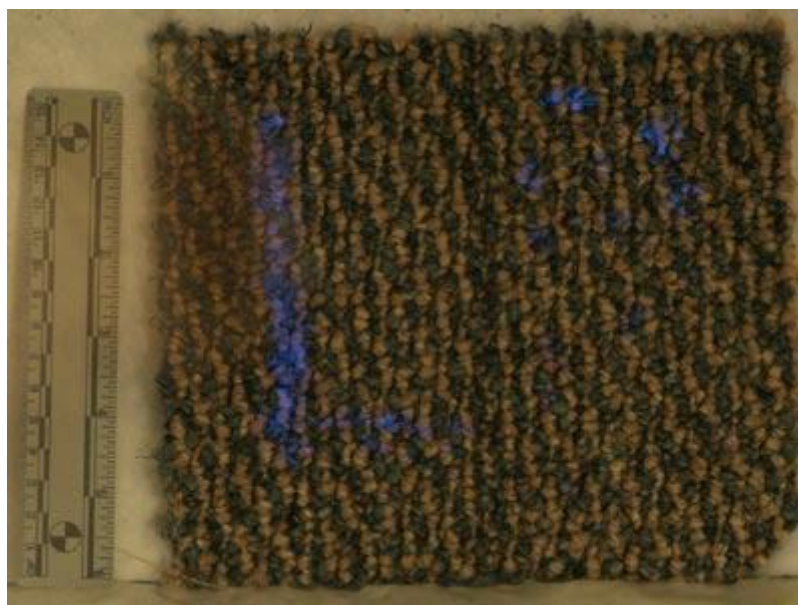


Figura 3-28 – Carpete pulverizada com **Luminol**. O lado esquerdo: o sangue foi limpo com água. Na direita: o sangue foi limpo com lixívia (Dilbeck, 2006).

3.2.2.1. Reacções das Oxidades

O exames presuntivos de sangue podem ser catalíticos, envolvendo o uso de agentes oxidantes, como o peróxido de hidrogénio [$\text{H}_2\text{O}_2(\text{aq})$] e um indicador que muda de cor (ou luminescente) e que sinaliza a oxidação catalisada pela hemoglobina como se fosse uma enzima peroxidase. Este comportamento de peroxidação da hemoglobina foi descoberto em 1863 pelo cientista alemão Schönbein.

3.2.2.3. Testes confirmatórios

Os testes confirmatórios são testes que **confirmam a presença de sangue** através da formação de cristais de derivados do grupo heme ou de reacções imunológicas com a hemoglobina. O segundo tipo é específico para **hemoglobina humana**, podendo ser utilizado também para determinação da origem, além de apresentar sensibilidade maior que o teste de cristais. Pode ocorrer falso-positivo no caso de contaminação por ferrugem ou alta temperatura na reacção dos cristais e com uso de certos detergentes e exposição prolongada ao luminol na imunocromatografia.

Cristais de Teichmann

Jungreis (1997) recomenda a confirmação pelo teste de grande selectividade, baseado na formação de cristais em lâmina, com identificação das respectivas cores dos cristais resultantes:

- Teste de Teichman: hidrólise ácida seguida da oxidação do Fe^{2+} a Fe^{3+} na hemina: hematina mais anticorpos anti-H com adição de Cloro dão origem a cristais romboédricos de hemina (cloreto ferriprotoporfirina).

Os cristais de **Teichmann** são a forma química particular do heme cujo átomo de ferro está oxidado. São cristais rômnicos ou prismáticos, isolados ou agrupados de cor castanho-escuros. Podem formar-se no sangue quando adicionado um reagente de Bertrand, assim confirmam que a amostra é sangue.

Para observar cristais de **Teichmann** é necessário preparar uma lâmina contendo o macerado da mancha, cobrir com uma lamela, adicionar o reagente Bertrand pela borda evitando bolhas de ar, aquecer a lâmina até o líquido borbulhar e observar ao microscópico.

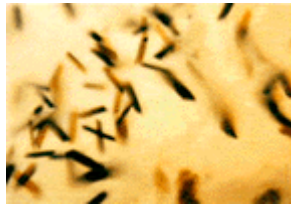


Figura 3-29 – Cristais de **Teichmann** (ESPÍNDULA, 2006).

Cristas de Takayama

Tal como o Teste de Teichman, Jungreis (1997) também considera o Teste de Takayama muito selectivo e baseado no mesmo princípio.

O Teste de Takayama traduz-se em: hematina mais NaOH, glicose e piridina formam-se agulhas ou cristais romboédricos (a reacção dura aproximadamente 30 segundos).

Esses cristais originam-se pela ligação do Fe^{2+} ao átomo de azoto (N) da molécula da piridina, gerando um complexo hemocromogénico, por exemplo, como agulhas cor-de-rosa da protoporfirina de piridina, ou na forma romboédrica.

Este método é usado para confirmar a presença de sangue através da produção de cristais característicos. Para isso deve-se preparar uma lâmina contendo o macerado do material suspeito, adicionar uma gota do reagente pela borda evitando bolhas de ar, aquecer a lâmina por 30 segundos. Ao microscópio observam-se cristais em forma de bastão em forma de pena de cor rósea avermelhada. É Recomendado para fibras de tecido ou raspado de crosta.

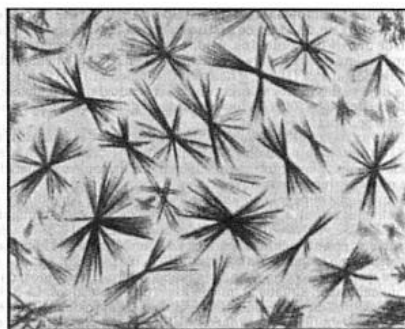


Figura 3-30 - Cristais de **Takayama** (VILLANUEVA CAÑADAS, 2006)

3.2.2.4. Testes específicos ou de origem

A determinação da origem humana é baseada em reacções antigénio-anticorpo (reconhecimento imunológico das proteínas do sangue) através da precipitação/métodos electroforéticos ou inibição. As reacções de precipitação dependem do anti-soro, da sua especificidade, coeficiente de difusão e da concentração dos reagentes. Os resultados sofrem a influência da idade da mancha, putrefacção, lavagem e aquecimento, podendo provocar falso-negativo.

Reacção de precipitação

- Anticorpo e antigénio interagem em meio líquido ou gel formando um complexo antigénio/anticorpo insolúvel. O uso do gel é vantajoso porque não há ocorrência de turbidez, além de possibilitar a análise de mais de um sistema de antigénio/anticorpo. Porém é necessário um longo tempo para a reacção:

- a) Método do anel (líquido) – é um método rápido e sensível que forma uma linha interfacial de precipitado entre o anti-soro e o extracto com o antigénio;
- b) Difusão dupla em duas dimensões – O gel é colocado numa placa onde antigénio e anticorpo são colocados em anéis circulares separados, difundindo-se e formando um precipitado em forma de arco. É superior ao método anterior porque permite a identificação de antigénios e anticorpos correspondentes em diferentes misturas;
- c) Métodos electroforéticos - A técnica combina a separação de fracções de proteínas por mobilidade electroforética com a precipitação das proteínas em gel devido à especificidade antigénica. É usado para comparações qualitativas em amostras diferentes. O **número de bandas de precipitados formados corresponde ao número de proteínas presentes** (imuno-electroforese em duas dimensões, electroimunodifusão e eletroforese cruzada);

Teste da inibição da antiglobulina humana

- É também conhecido como teste de **Coombs** e demonstra a presença de globulina. Neste método a globulina irá inibir a actividade do soro antiglobulina, o qual perderá a

capacidade de aglutinar eritrócitos sensibilizados por anticorpos incompletos. Se uma mancha de sangue contém globulinas humanas e é incubada com anti-soro globulina humano, essas globulinas irão neutralizar o anti-soro e nenhuma aglutinação ocorrerá, indicando que a mancha é de origem humana;

Imunocromatografia

A **Imunocromatografia** é uma tecnologia inovadora que concentra a reacção antígeno-anticorpo numa única fase sólida, sendo esta mantida e utilizada a temperatura ambiente.

É um teste que combina a determinação do sangue com a determinação da espécie que apresenta grande sensibilidade. É realizado em membrana cromatográfica que contém anticorpos imobilizados e anticorpos móveis, que se movimentam por acção capilar. A hemoglobina reage com o conjugado formando uma linha azul.

A concentração de hemoglobina pode ser problemática, em excesso pode dar falso-negativo (efeito *hook* – a hemoglobina livre chega à zona de reacção antes do conjugado ligando-se ao anticorpo imobilizado sem corante).

Existem vários *kits* comerciais que usam esta metodologia para detecção de amostras de sangue entre eles: **Hexagon OBTI®**, **RSID®-Blood**, **SERATEC®HemDirect**.

O princípio do teste é o mesmo em ambos os testes: as hemoglobinas humanas (HHB) reagem com um conjugado composto de partículas coloridas e anticorpos monoclonais para hemoglobina humana, aparecendo duas linhas coloridas na janela de teste.

No caso do **SERATEC®HemDirect** é um teste sensível a 40 ng / mL de hemoglobina e pode ser realizado em aproximadamente 5 min. No entanto, têm sido relatados casos de reacções cruzadas com primatas e elevados falsos negativos devido a um elevado efeito de *hook* (HOCHMEISTER, 1999).

O teste **RSID®-Blood** tem um limite de detecção de 100 nL de sangue e é exposto para eliminar os problemas de falsos negativos bem como falsos positivos a partir de certos tipos de alimentos (SCHWEERS, 2008).

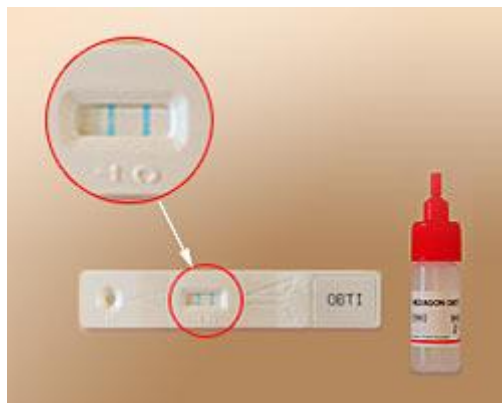


Figura 3-31 – Teste imunocromatográfico **Hexágono OBTI®** (Bluestar Forensic User's Manual. ROC Import Group, Monte-Carlo. Disponível em: www.bluestar-forensic.com, acesso a: Outubro 2008).

Imunofluorescência

Thorogate e seus colaboradores (2008) desenvolveram uma nova técnica baseada no método de imunofluorescência para a detecção de vestígios de sangue humano *in situ*. Esta técnica permite ainda identificar eritrócitos e leucócitos individualmente e o seu conteúdo em DNA, no caso dos leucócitos.

O método não só é fácil de usar como é específico para humanos e apresenta resultados em aproximadamente 45 min. O procedimento passa pela pulverização da área de interesse com dois anticorpos marcados com diferentes fluoróforos (*Alexa Fluor 488* e *568*), em seguida são feitas a lavagem para a remoção dos anticorpos fluorescentes não ligados.

Fazendo incidir uma fonte de luz é possível localizar espacialmente a mancha de sangue humana, bem como os leucócitos nucleados, de onde se pode obter o material genético permitindo a determinação do perfil, assim maximiza-se a recuperação do DNA.

Além disso, Thorogate e seus colaboradores (2008) demonstraram que a técnica pode ser usada para detectar manchas de sangue mesmo em tecido escuro (fibras de algodão preto) e manchas antigas (teste sensível em manchas com 4 meses).

3.2.2.5. Testes de identificação individual

A identificação individual através de amostras de sangue é possível, actualmente pela determinação do perfil de DNA. Embora já em desuso a determinação dos antígenos do sistema ABO, Rh e MN em manchas de sangue é outra técnica que favorece a identificação.

Testes de identificação individual

- **Os grupos sanguíneos** foram descobertos por **Karl Landsteiner** em 1900 e são caracterizados pela presença de substância antigénica nos eritrócitos que aglutina na presença do anticorpo específico. Em relação ao sistema ABO, é pesquisada a presença dos antígenos A e B e anticorpos a e b. Os antígenos são determinados em lâminas e em tubos pelos soros anti-A e anti-B (humanos/anticorpos naturais, monoclonais e lecitinas), enquanto os anticorpos são identificados através de classificação reversa, por suspensão de eritrócitos (A e B). Em relação ao sistema MN e Rh, são pesquisados os antígenos M, N e o factor De, existem ainda outros antígenos associados a outros sistemas de Tipagem sanguínea, tais como: Kell, Duffy, Kid e Lewis (HENRY, 2001).

- São utilizados **métodos indirectos**, visto que a maioria dos eritrócitos estão hemolisados:

- a) Teste de Lattes – O extracto da mancha é colocado directamente com o indicador de células, verificando a aglutinação. É útil apenas nas duas primeiras semanas e não pode ser usado isoladamente devido à contaminação;
- b) Absorção-Eluição – O antígeno da mancha é colocado com o anticorpo que é absorvido, o excesso de anticorpo é lavado e os anticorpos absorvidos são eluídos e identificados por indicadores. Método mais sensível que pode utilizar pequenas quantidades de sangue;
- c) Aglutinação Mista – Teste utilizado quando a quantidade de material é ínfima. O anti-soro é adicionado à mancha, depois da absorção o excesso é lavado, o anticorpo que reagiu permanece, os indicadores são adicionados e se unem a extremidade livre (o anticorpo reage com o antígeno e com o indicador).

Como já foi referido esta técnica foi uma mais-valia no passado actualmente com o desenvolvimento da Biologia molecular caiu completamente em desuso.

- Biologia molecular – perfil de DNA. Embora não seja objecto da presente tese é importante clarificar resumidamente este método. O Perfil do DNA ou Perfil genético tem sido considerado um método importante na identificação individual, pois a informação contida no DNA é única e individualizante. No perfil de DNA, somente algumas regiões são analisadas. As regiões escolhidas são aquelas que apresentam maior variação individual e facilidade de estudo (LEE, et. al., 1990). Essas regiões são denominadas de marcadores genéticos ou moleculares. Em criminalística as regiões estudadas são no mínimo 13 regiões de STR: D3S1358, VWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820, CSF1PO, TPOX, THO1 e D16S39 (BAR, et. al., 1997).

3.3. *Vestígios biológicos forenses: os Pêlos*

O pêlo é provavelmente um dos tipos mais comuns de vestígios forense (NICKELL e FISCHER, 1999). Este vestígio é **extremamente variável entre indivíduos e populações étnicas** (CROCKER, 1999) (SAFERSTEIN, 2004) (GREENSHIELDS e SCHEURMAN, 2001).

A incapacidade da comunidade científica de distinguir pêlos animais de humanos elevou o interesse na sua análise. O que levou os investigadores a recolher informações sobre a estrutura do pêlo humano e animal (BLOCK, 1979).

Este tipo de evidência nunca deve ser utilizado como **único indicador** de culpa. A comparação visual por si só é **subjectiva** e depende da interpretação de cada cientista. No entanto, quando este vestígio biológico é usado em conjunto com análises ao DNA e outros elementos de prova pode ser uma ferramenta poderosa para um investigador (STECK-FLYNN, 2006).

Este tipo de evidência pode ser encontrado em variados crimes, especialmente em homicídios violentos. Exemplos são: violações, raptos, crimes com uso de armas, sequestros, entre outros. Neste tipo de crimes geralmente **há ocorrência de luta entre a vítima** e o delinquente, assim é possível detectar pêlos debaixo das unhas e no vestuário. Os pêlos também podem ser encontrado em escovas de cabelo, camas, no chão, almofadas, e móveis, e em casos de crime sexual o perito médico responsável pelo exame de corpo de delito deve prestar especial atenção na pesquisa e detecção de pêlos de todos os indivíduos envolvidos (PINHEIRO, 2003).

O pêlo pode ser proveniente do couro cabeludo, ou de diferentes partes do corpo, em casos de homicídios e assaltos onde haja vítimas agredidas com objectos sólidos e pesados é mais provável detectar cabelos, já que este adere ao objecto através do sangue. Este tipo de evidência determinará qual o objecto que efectivou o crime.

Esta evidência biológica permite-nos ainda recolher pistas que nos possibilitem concluir sobre a presença de determinado indivíduo num local específico ou se esse indivíduo têm alguma relação com um objecto particular. De qualquer forma, a identificação do pêlo não é tão **imediate ou específica** como se possa acreditar. Deverá sempre ser procurado no local de crime, e **não deve ser sobrestimada o valor deste elemento de prova**.

A manipulação deste tipo de amostras exige muitos cuidados. Pêlos, em alguns casos, podem excluir determinadas populações ou ajudar a identificar uma vítima desconhecida (BLOCK, 1979). A **transferência cruzada** de pêlos de uma vítima a um

suspeito ou vice-versa pode elevar substancialmente a probabilidade de que a vítima e o autor terem estado em contacto (COCKER, 1999).

Tal como acontece com a maioria das provas forenses, as informações obtidas a partir do estudo dos pêlos são expressas em termos de probabilidades em vez de uma absoluta correspondência (CROCKER, 1999).

3.3.1. Estudo forense do pêlo

As questões periciais que se apresentam com os pêlos são as seguintes:

1. Diagnóstico Específico.
2. Lugar do corpo do qual procedem.
3. Se o pêlo foi cortado, arrancado ou caiu.
4. Idade do sujeito.
5. Sexo.
6. Se procede de um ser vivo ou cadáver.
7. Determinar se estão pintados ou descolorados.
8. Origem étnica.
9. Se o pêlo corresponde a um indivíduo de determinada profissão.
10. Traumatologia do fio.
11. A distância desde a qual o tiro fatal foi disparado, em casos de morte por arma de fogo.
12. A possível existência de tóxicos no sujeito do qual procedem.
13. O índice escamoso do pêlo em estudo.
14. O grupo sanguíneo do indivíduo do qual provem o vestígio.
15. Se o fio é saudável ou padece de alguma patologia que permita a sua tipificação.
16. Conteúdo em elementos metálicos inorgânicos.

17. Realizar ensaios serológicos que permitam fenotipar isoenzimas para individualizar o fio em estudo.

O objectivo do laboratório é responder a cada uma destas questões e assim auxiliar na investigação do crime.

3.3.1.1. Biologia do pêlo

A história evolutiva dos pêlos é um verdadeiro enigma. Qualquer que haja sido a sua origem, fica claro que os mamíferos devem muito do seu êxito evolutivo às propriedades desta cobertura pilosa.

O crescimento do pêlo é controlado por hormonas como esteróides ou a tiroxina, cuja sua secreção é, por sua vez, controlada pelo hipotálamo e a hipófise.

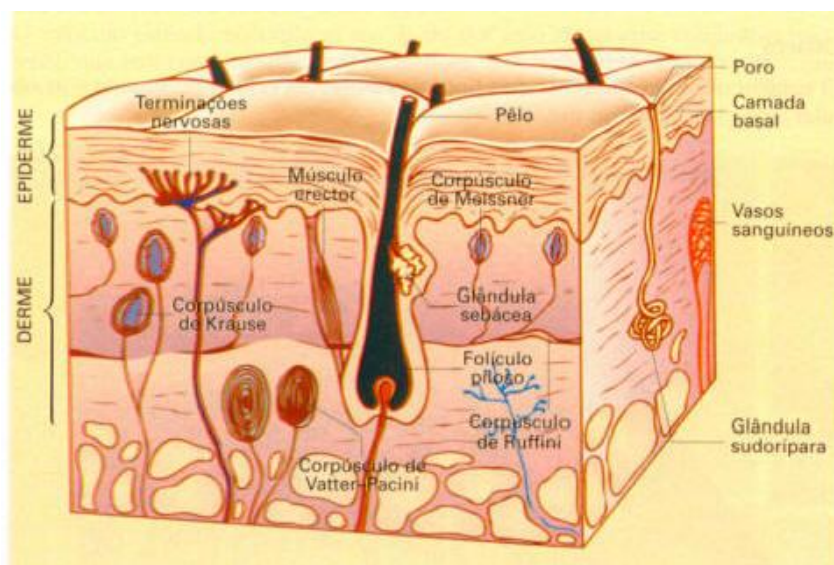


Figura 3-32- Corte transversal de pele onde é visível a estrutura do pêlo

(Disponível em: www.wikipedia.org, acesso a : 12 Fevereiro 2008).

3.3.1.2. Formação e crescimento do pêlo

A formação do **pêlo** inicia-se por uma invaginação tubular da pele, no folículo piloso cujas paredes são formadas por epiderme e derme, como já foi referido. No interior do folículo piloso existe um tecido conjuntivo saliente que constitui a papila pilosa. A raiz continua como haste do pêlo cujo diâmetro é maior e atravessa a pele. Adjacente a cada pelo, existem as glândulas sebáceas, estão situadas num ângulo obtuso e abrem na porção superior do folículo.

Os **folículos pilosos** desenvolvem-se numa posição não vertical mas sim inclinados na derme e os mais compridos prolongam-se até à camada de gordura subcutânea. Um músculo oblíquo parte da zona média da parede do folículo e desenvolve-se até à união entre a derme e a epiderme. Em cima do músculo, encontram-se uma ou mais glândulas sebáceas. Esta zona é considerada o local de geração de novos pêlos e onde se inicia cada novo ciclo de crescimento.

O núcleo dos folículos pilosos aparece primeiro na região das sobrancelhas e do lábio superior, a partir das nove semanas de desenvolvimento embrionário e, noutras zonas do corpo, na quarta semana. Às 22 semanas, todos os folículos pilosos já estão completamente estabelecidos. À medida que o corpo aumenta de tamanho, decresce a densidade dos folículos.

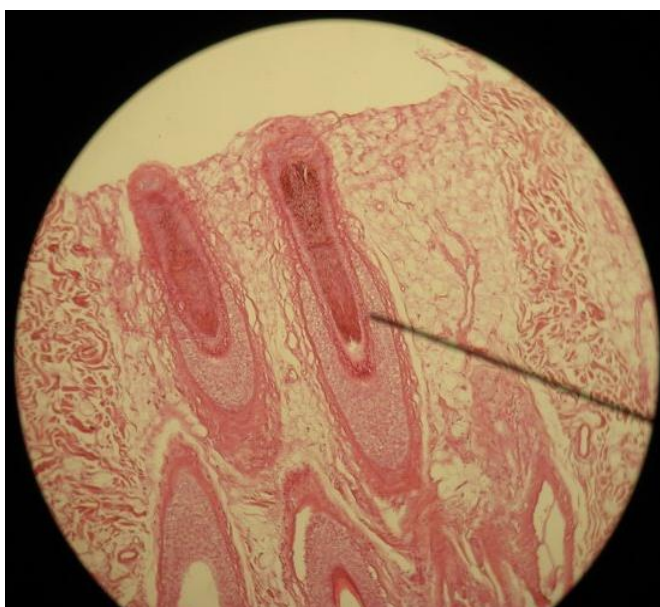


Figura 3-33 – Folículo piloso (<http://picasaweb.google.com/simon.missirian/Pele>).

Existem três fases de crescimento de pêlos. A primeira fase é a **Anagénese** fase em

que o pêlo apresenta um crescimento activo. Se um cabelo é puxado durante esta etapa a raiz aparecerá com forma de uma chama, além disso, terá tecido folicular aderido ao pêlo. **Esta é a mais rica fonte de DNA.** O DNA proveniente de um pêlo em fase de Anagénesse pode fornecer DNA nuclear, este pode ser analisado de forma a permitir a criação de um perfil do doador. O perfil de DNA pode auxiliar na constituição da correspondência de uma amostra de pêlo do suspeito ou da vítima com uma amostra já conhecida. A fase de crescimento Anagénesse tem a **duração de até seis anos** (SAFERSTEIN, 2004).

A segunda fase de crescimento é denominada de **Catagénesse**. Nesta fase a raiz alonga-se. Esta é a fase final do crescimento (SAFERSTIEN, 2004). A Catagénesse **dura várias semanas**.

A última etapa é a **Telogénese** que pode durar até 6 meses. Nesta fase o cabelo cai naturalmente. (SAFERSTEIN, 2004) (CROCKER, 1999) (KUBRIC e PETRICO, 2003).

3.3.1.3. Características morfológicas

Uma amostra de pêlo é analisada de duas formas, o pêlo como um todo e uma secção transversal.

Quando é visto na sua totalidade, o pêlo é composto por três partes, a **raiz** (bulbo), o **eixo/haste** e a **ponta**. O comprimento e a forma de um pêlo pode ser usado para identificar o local de origem do pêlo no corpo (INNES, 2000).

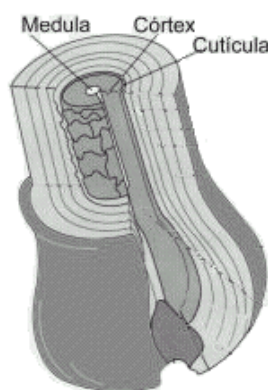


Figura 3-34 – Secção transversal de um pêlo (<http://picasaweb.google.com/simon.missirian/Pele>).

A secção transversal de um pêlo pode ser visualizada como sendo um lápis. A medula é o carvão. O córtex é a madeira. A cutícula é a tinta cobrindo a madeira (BISBING, 2002).

Raiz

Os peritos analisam a **forma da raiz** para indicar qual a fase de crescimento do pêlo e **detectar se o cabelo foi arrancado ou caiu naturalmente** (INNES, 2000) (CROCKER, 1999) (SAFERSTEIN, 2004). A falta da raiz poderia indicar que o cabelo tenha sido **cortado**. Agressões ao cabelo, tais como esmagamento, queimadura e outros tratamentos químicos podem ser observadas a partir do eixo do cabelo. Dada uma taxa média de crescimento de 1 milímetro por dia o investigador pode estimar a duração do tempo que decorreu desde que o dano ocorreu (CROCKER, 1999).

A raiz também pode conter **tecido folicular** que é usado para **testes de DNA**.



Figura 3-35 – Bulbo do pêlo (<http://picasaweb.google.com/simon.missirian/Pele>).

Eixo ou haste

O **eixo** ou **haste** pode ser examinado, usando um microscópio óptico, uma vez que esta porção do pêlo possui de características únicas no seu interior. Estas características incluem a forma e tipo da **medula**, a presença e dispersão dos padrões de grânulos de pigmento e da forma e do padrão externo. De uma forma geral, as condições estruturais apresentadas pelo pêlo, mais especificamente o eixo, possibilitam ao perito detectar danos no pêlo, por exemplo, que indiquem uma mordida de um insecto, isto permite-lhe concluir que o pêlo não foi recentemente perdido.

A queima ou esmagamento fará com que o eixo do pêlo se enrole sobre si e fique com uma consistência plástica (CHAYCO e PATRECO, 2003).

O cabelo cresce a uma taxa relativamente constante de 1 mm por dia. Com este conhecimento um investigador pode estimar o tempo decorrido desde a exposição a produtos químicos ou térmicos, por exemplo pinturas, permanentes, entre outros (CROCKER, 1999).

Ponta

A **ponta** de um cabelo pode revelar tratamentos químicos ou térmicos que o cabelo tenha sofrido. Também pode ser importante para distinguir se os pêlos da barba foram raspados ou aparados.

Medula

A medula é um canal central situado no interior do pêlo, em várias espécies animais este canal é predominante, ocupando a maioria do diâmetro do pêlo. As células da medula estão separadas por uma rede aérea de aspecto variável, **dependendo da espécie animal**.

A medula pode ser visualizada microscopicamente através de montagem do pêlo seco ou embebendo o pêlo em parafina e posteriormente cortando em finas secções. A medula oferece uma série de dados muito interessantes, devem-se considerar a medida do diâmetro total e o diâmetro medular.

O **Índice Medular** é usado para distinguir os pêlos **humanos** dos **animais**. É expresso como um rácio entre o diâmetro do eixo e o diâmetro da medula (SAFERSTEIN, 2004). Nos animais a medula irá tornar-se mais de $\frac{1}{2}$ do total diâmetro do pêlo. Nos seres humanos a razão é geralmente inferior a $\frac{1}{3}$ (SAFERSTEIN, 2004), nos homens o índice medular varia entre 0,25 a 0,35 e nas mulheres, é normalmente inferior a 0,20.

Nem todos os pêlos têm medula, e quando a têm, esta pode variar. A **medula** pode ser classificada como **ausente, fragmentada, interrompida** ou **contínua** (LANE, 1992) (SAFERSTEIN, 2004). Pode ser opaca, translúcida, vacuolarizada, ou totalmente amorfa na aparência (figuras 3-7). Quando a medula é fragmentário, as células apresentam uma estrutura fusiformes, ou espiralada.

A maioria dos cabelos humanos com excepção do cabelo dos Mongolóides não tem medula ou possui apenas a medula fragmentada (Lane, 1992).

A maioria dos animais tem uma medula contínua ou interrompida. Pêlos de origem animal podem apresentar padrões específicos (SAFERSTEIN, 2004) (LANE, 1992). A **forma da medula**, por se tratar de um padrão pode ser utilizado para determinar espécies, e

quando se trata de humanos, permite identificar a origem étnica (SAFERSTEIN, 2004) (LANE, 1992).



Figura 3-36 – Microfotografia de pêlo com Medula contínua e clara (KRISTEN, 2004).



Figura 3-37 – Microfotografia de pêlo com Medula contínua e opaca (KRISTEN, 2004).



Figura 3-38 – Microfotografia de pêlo com Medula interrompida (KRISTEN, 2004).



Figura 3-39 – Microfotografia de pêlo com Medula vacuolarizada (KRISTEN, 2004).

Assim sendo, nos seres humanos a **Medula** pode ser **ausente** ou **presente**. Quando presente mostra um desenvolvimento **rudimentar**, células invisíveis ou quase, o diâmetro é muito reduzido, cheias de bolhas de ar, células interrompidas. Nos **pêlos animais** a **medula** é geralmente **presente**, células visíveis e aparentes, diâmetro bastante amplo, cheia de bolhas de ar como “sacos grandes e pequenos”, células contínuas.

Córtex

O **córtex** circunda a medula, é sustentado por uma camada protectora, a **cutícula**, é constituído por células corticais em forma de agulha, as quais se alinham numa formação regular em paralelo ao comprimento do cabelo. Distinguem-se no córtex duas estruturas principais: uma é semi-cristalina, formada por cadeias polipépticas, na direcção do folículo piloso. Estas cadeias são denominadas de **microfibrilhas**, rodeando estas fibrilhas encontra-se uma estrutura com elevado conteúdo de enxofre e prolina chamada **matriz**.

Vista ao microscópico são observadas estruturas no interior do córtex semelhantes a grânulos pigmentados que originam as diferentes colorações do pêlo, **a cor, associada à densidade, e a distribuição destes grânulos** ao longo do eixo de proximal para distal permitem à criminalista importantes pontos de comparação entre pêlos humanos. Os pêlos de cor cinza não têm grânulos de pigmento. Quando o pêlo apresenta grânulos de pigmento de forma densa provocam o escurecimento nas suas estruturas interiores. O tamanho dos grânulos varia de muito fina a grossa (Figura 3-9) (SAFERSTEIN, 2004) (KUBIC e PATRACO, 2003).

Assim sendo, o **córtex** de pêlos humanos apresenta células conificadas e espessas, com pigmento em forma de grão finíssimo e homogêneo, mais larga que no animal, já nos pêlos animais o córtex tem forma de cilindro oco e delgado, com pigmentos em forma de grãos irregulares maiores que nos pêlos humanos; é muito reduzido.



Figura 3-40 - Microfotografia de um pêlo onde é visível a distribuição dos grânulos de pigmentos (Kristen, 2004)

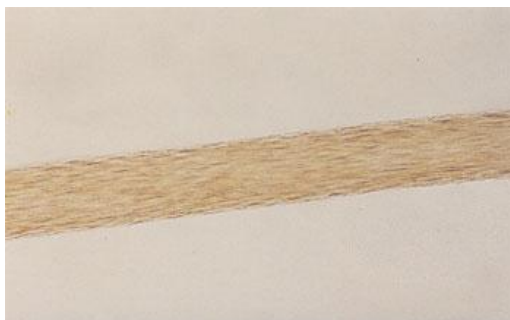


Figura 3-41 – Microfotografia de pêlo humano, onde são visíveis as células do córtex apresentando grande espessura (Kristen, 2004).

Cutícula

A **cutícula** é a “membrana” exterior do lápis, é lhe atribuída a capacidade de **resistência** e **estabilidade**, é formada por escamas sobrepostas na direcção da terminação ou da ponta do pêlo.

As escamas são formadas por células especializadas, as quais se acumulam em pilha desde o folículo e o nascimento do pêlo, formando 6 a 8 camadas.

Os métodos usados para o estudo da cutícula podem passar pela sua observação

microscópica em preparação adicionando uma gota de água; uma outra modalidade é, após o branqueamento corar a preparação com azul-de-metileno e em seguida observar, ainda um outro método é o de fazer um molde da sua superfície.

Ogle e Mitosinka (1973) conceberam um método rápido e fácil de fazer um **molde** do pêlo com o uso de **verniz de unhas** transparente. Isto pode ser feito rapidamente revestindo uma lâmina de vidro com meio flexível como esmalte ou verniz claro de unhas, solução vinílica ou folha de acrílico (*plexiglas*) em solução de clorofórmio, em seguida o pêlo é colocado sobre a lâmina. Quando o meio endurece, o pêlo é removido, e permanecem uma clara e distinta impressão da cutícula do pêlo, ideal para a observação em microscópio (CROCKER, 1999).

O estudo da cutícula é bastante usado uma vez que permite a observação de um **padrão** específico de cada espécie (Saferstein, 2004) (Lane, 1992) (Crocker, 1999) (KUBIC e PETRACO, 2003).

No ser **humano**, a cutícula é **suave** e pouco **saliente**, com sobreposição de escamas, nos **animais** é **espessa** e ligeiramente sobreposta.

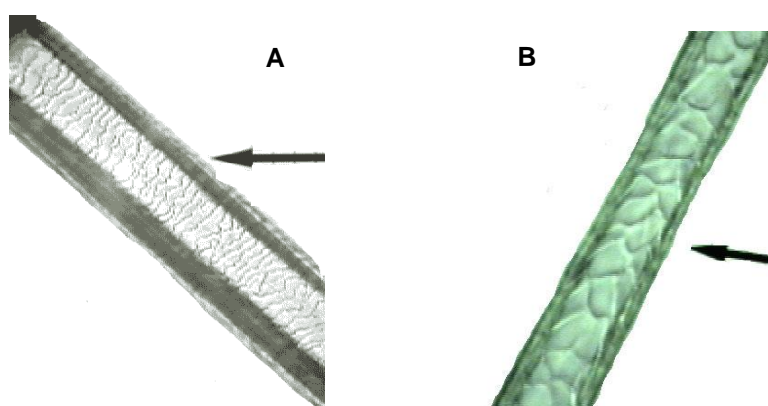


Figura 3-42 – Padrão da cutícula de pêlo humano (A) e (B) Padrão da cutícula de pêlo animal (cão) (KRISTEN, 2004).

Em geral, todos os pêlos de um indivíduo, apresentam títulos **de índice escamoso** ou **padrões muito semelhantes**, embora não haja uma grande variedade destes índices para diferentes indivíduos. É útil, em alguns casos, para excluir um pêlo de outra fonte que está em estudo.

Os padrões podem ser **coronal**, **pétala**, ou **imbricado**.

No padrão **imbricado**, as **escamas estão sobrepostas** e não apresentam modelo aparente. Este **padrão é encontrado em seres humanos**, as escamas são delgadas e transparentes sem saliências dispostas na superfície **como “telhas de um telhado”** (SAFERSTEIN, 2004).

O padrão **pétala** lembra as escamas de um réptil e não são encontradas em seres

humanos. Por fim, o padrão **coronal** apresenta escamas da cutícula simétricas e sobrepostas. Estas não são normalmente encontradas em humanos (CHEYKO e PETRECO, 2003).

No caso de pêlos animais, a cutícula apresenta-se sob a forma de escamas grossas e salientes, imbricamento com serrilhado bem visível e aspecto de um conjunto de espinhos.

A sua determinação é efectuada pela observação microscópica utilizando ocular de 10x e objectiva de 25 x.

3.3.1.4. Pêlos: colheita e armazenamento

Colheita

A **colheita** de pêlos deve ser realizada cuidadosamente visando a extracção do fio íntegro, utilizando material/equipamento adequado ao suporte (cabeça e/ou demais regiões do corpo).

Infelizmente, muitas vezes as amostras de pêlos não são cuidadosamente ou correctamente colhidas, especialmente se a amostra não foi colhida sob a supervisão de pessoal qualificado.

Métodos de recolha de pêlos variam de acordo com o âmbito de aplicação e as circunstâncias do inquérito ou investigação (GREENSHIELDS e SCHEURMAN, 2001).

Em algumas circunstâncias será utilizado mais do que um método de recolha. Em geral, os métodos de colheita de pêlos como potenciais provas não foram alterados desde o último quarto do século XIX (BISBING, 2001).

O indivíduo a quem a amostra for colhida deve ser **identificado**, além dos dados pessoais do indivíduo também devem ser registadas e documentadas as características da amostra (como peso, comprimento, comprimento do pêlo residual, cor).

Recomenda-se que se recolha uma mecha de cabelo com um diâmetro de 3-4 mm. O local preferencial para recolha da amostra sobre o couro cabeludo é a zona mais próxima do folículo.

Existem seis métodos principais de colheita deste tipo de vestígio forense. A primeira é a **colecta de fios detectados visualmente**. O investigador poderá recolher estes fios observáveis com a própria mão ou com pinça. **O uso de pinças não é recomendado na maioria dos casos, uma vez que podem causar danos à estrutura do pêlo.** A Pinça também pode destruir a delicada **estrutura da raiz e seus tecidos circundantes**, que são utilizados na **biologia forense para análise de DNA** (GREENSHIELDS e SCHEURMAN, 2001) (BISBING, 2001). Fontes de luz como infravermelho ou laser podem ser utilizadas para aumentar a capacidade do investigador de identificar visualmente os pêlos (GREENSHIELDS e SCHEURMAN, 2001) (CROCKER, 1999).

A **fita adesiva** pode ser utilizada tanto para recolher pêlos visíveis e não-visíveis de diferentes superfícies. No Canadá este é o método mais utilizado (CROCKER, 1999).

A fita adesiva pode ser usada em forma de rolo ou como folhas. Fita adesiva em folha é usada em superfícies lisas ou em vestuário, cada secção será marcada como a parte da peça de vestuário de onde as amostras foram obtidas (BISBING, 2001). É importante que a fita não seja demasiado pegajosa para que após a colheita não fique um amontoado de

fibras (CROCKER, 1999).

O método de recolha por **aspiração** é usado para grandes cenas crime ou onde há maior número de pontos de transferência ou quando a cena é completamente desconhecida. Este método também pode ser utilizado em objectos imóveis que não possam ser transportados (GREENSHIELDS e SCHEURMAN, 2001). Os aparelhos aspiradores utilizados pelos investigadores são equipados com um filtro especial que pode ser removido e rotulado adequadamente (CROCKER, 1999). **Um exemplo de aparelho com estas funções e o Conecta 190.**

Outro método de recolha deste tipo de evidência é **escovagem, raspagem ou agitação** de vestuário ou de outros objectos que permitam este tipo de aplicação. O material a ser analisado é depositado numa folha de papel branco, a fim de aderir à folha (BISBING, 2001). As evidências encontradas sobre o papel branco são então separadas em classes como cabelo, fibras de vidro, entre outras e analisadas em conformidade. (CROCKER, 1999).

Algumas peças de vestuário e de outros tipos de tecidos podem ser colocados **em sacos** próprios e **agitado**. Este método permite ao investigador a recolha de elementos de prova no fundo do saco sem que se dispersem no ar (BISBING, 2001).

Por fim, outro dos métodos que é possível usar para recolher este tipo de evidências são o **corte** e o **pentear** do pêlo. A transferência cruzada de pêlo (geralmente pubiana) entre um suspeito e a vítima é muito frequente, assim a técnica de **pentear** é usada para extrair fios soltos que possam ter sido transferidos (GREENSHIELDS e SCHEURMAN, 2001) (BISBING, 2001) (SAFERSTEIN, 2004).

A qualquer indivíduo que possa ter deixado pêlos no local do crime devem ser colhidas amostras de fios para efeitos de comparação. Devem ser colhidos cerca de 100 cabelos provenientes de diferentes regiões da cabeça, penteados e arrancados. No que se refere aos pêlos púbicos podem ser arrancados, penteados e cortados. Cerca de 30-50 cabelos devem ser recolhidos e rotulados com a área do organismo de origem e o método de recolha (GREENSHIELDS e SCHEURMAN, 2001) (BISBING, 2001) (SAFERSTEIN, 2004).

Armazenamento

As amostras de pêlos devem ser **armazenadas** sob condições específicas: devem permanecer **secas** e **escuras** (protegidas da luz), à **temperatura ambiente**, **individualizadas** e acondicionadas em envelope de **papel lacrado**. Em casos forenses, é geralmente aconselhável para colecta **duas amostras** separadas, cada uma suficiente para o conjunto das análises. A segunda amostra é armazenada separadamente, devem ser deixadas intactas e utilizado apenas no caso de uma necessidade.

As amostras embebidas ou impregnadas com substâncias orgânicas (sangue, urina, esperma, saliva e/ou outras) devem secar a temperatura ambiente antes de serem acondicionadas. O material deve ser devidamente etiquetado e encaminhado com brevidade para o laboratório. No caso de os pêlos se encontrarem aderidos a um suporte deve-se encaminhar os fios juntamente com o suporte.

O material deve ser acondicionado em embalagem de papel e em seguida se necessário em saco plástico, devidamente etiquetado e encaminhado com brevidade ao laboratório.

Se a amostra se encontrar aderida em suporte não removível, a colheita deve ser realizada cuidadosamente, utilizando material/equipamento adequado ao suporte, visando-se manter o fio íntegro, as amostras devem ser individualizadas e acondicionadas em envelope de papel.

3.3.1.5. Exame do Pêlo

O estudo do pêlo passa pelo exame macro e microscópico do fio, no seu todo e numa secção transversal.

Exame Macroscópico

O **exame macroscópico** inicia-se com a **análise visual** do local, do fio ou do suporte, visando verificar o seu **estado geral**, **preservação**, além de identificar e seleccionar os vestígios; posteriormente faz-se a caracterização das condições em que os vestígios foram recebidos; observa-se, ainda, a **quantidade** de fios e a sua **integridade** (BARBERÁ, et. al., 1991).

Em seguida as amostras devem ser **etiquetadas** com todos os dados da ocorrência (histórico) e por fim procede-se à análise do material através da lupa microestereoscópica.

Para proceder a esta perícia, são necessários vários equipamentos e recursos. Para exames de colheita de evidências macroscópicas são necessárias: luvas descartáveis, pinça estéril, lupa, invólucros de papel, tesoura, etiquetas, lápis.

Macroscopicamente, os pêlos animais são, em geral, curtos e fusiformes, de colorido uniforme ou variado e de diversas espessuras. Os pêlos humanos são flexíveis e de colorido homogéneo.

Exame Microscópico

Para o **exame microscópico e físico-químico** da evidência é essencial: lupa estereoscópica, Microscópio binocular, escala micrométrica, régua milimétrica transparente, vareta de vidro, lâmina e lamela, tubos de ensaio, placa de Petri, Água destilada, Éter sulfúrico P.A., Ácido nítrico P.A., Álcool etílico P.A., Xilol comercial, α -naftol, Ácido sulfúrico P.A., Bálsamo do Canadá ou Entellan.

O exame **microscópico** deste tipo de evidência implica alguma preparação e depende do fio a ser examinado. A **preparação** para exame microscópico envolve **Limpeza**, **Desidratação**, **Descoloração** e **Montagem** lâmina-lamela, com **uso de bálsamo do Canadá** ou Entellan.

Este espécime deve ser colocado sobre uma lâmina limpa, adiciona-se uma gota de água destilada, em seguida procede-se à montagem assentando a lamela e por fim é analisado ao microscópio binocular com uso de escala micrométrica a fim de visualizar as

características microscópicas internas. Pode ser necessário aplicar algum peso sobre a lamela, a fim de garantir uma montagem fina, quanto mais fina, mais fácil será a análise.

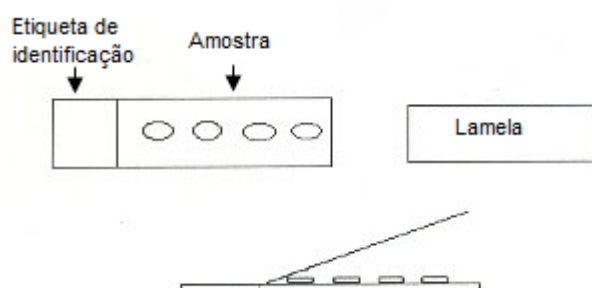


Figura 3-43 - Ilustração da preparação da lâmina.

Como facilmente se pode verificar este método não pressupõe a **limpeza** do pêlo antes da sua visualização microscópica. Este procedimento permite frequentemente descobrir manchas de **sangue, espermatozoides, pus** entre outros. Finalizada esta observação preliminar, procede-se à limpeza do pêlo. Podem fazer-se **duas preparações, uma em que o pêlo foi sujeito a limpeza e outra não.**

Quanto à limpeza, para lavar e **eliminar as partículas** estranhas dos pêlos usa-se uma solução de sabão ou carbonato de potássio a 10 % indistintamente, seguidamente desidrata-se com álcool etílico, por fim passa-se por xilol e observa-se ao microscópio em meio aquoso ou glicorado, pode usar-se bálsamo de Canadá.

No caso de o pêlo ser muito escuro, pode **descolorar**, para isso podem utilizar-se uma das seguintes soluções peróxido de hidrogénio, perhidrol a quente, ácido acético, solução de hipoclorito de sódio, solução alcoólica de cloro ou ácido nítrico. São obtidos bons resultados com peróxido de hidrogénio de 100 vol. e com hidróxido de sódio de acção combinada. Geralmente a descoloração do pêlo apresenta uma delonga de aproximadamente 15 minutos, não alterando a estrutura dos exemplares.

Da observação microscópica dos fios são obtidos dados característicos dos mesmos que permitem a sua distinção.

Microscopicamente também se pode distinguir as diferentes **origens étnicas**, brancos e caucasianos, pretos, amarelos ou castanhos, assim como a dos índios americanos, chineses e outros asiáticos.

Os pêlos do couro cabeludo proporcionam a abordagem mais segura para identificar a etnia do indivíduo detentor do pêlo, é também extremamente importante a presença de **medula** no pêlo, uma vez que este desempenha um papel fundamental nesta determinação.

Assim, fazendo uma utilização adequada dos valores obtidos a partir do **índice**

medular e da **área da secção transversal** do pêlo, juntamente com os dados que mostram estudos **morfológicos**, é possível distinguir num número considerável de casos, a origem racial do indivíduo a quem pertence o fio em estudo.

Origem étnica pode ser determinada, como referido, embora em países onde muitos indivíduos têm ascendência mista pode tornar-se uma tarefa difícil. Se o pêlo mantém tecido folicular (no caso de ser arrancado) a análise de DNA é possível. A partir desta análise o sexo e o perfil genético podem ser determinados. Se não estiver presente o tecido folicular é possível apenas a análise ao DNA mitocondrial, assim determina-se o perfil do material genético da mãe do indivíduo. O DNA mitocondrial não pode ser usado para distinguir irmãos.

A **determinação da idade** também é possível através do exame microscópico do pêlo. Os pêlos fetais apresentam as características do cabelo, ausência de canal medular e de pigmentos. A sua espessura varia de 20 a 50 µm, no feto a termo.

Os recém-nascidos possuem pêlos com canal medular, este facto é resultado da maturação dos recém-nascidos. O desenvolvimento do canal medular, tem início em primeiro lugar nas pestanas (BARBERÁ et. al., 1991). Nos idosos, os pêlos tendem a diminuir em número, espessura e o diâmetro médio do pêlo cai de 80 para 60 a 65 µm.

Determinação do grupo sanguíneo – teste de identificação

As técnicas que evidenciam resultados fiáveis na busca de aglutinogénios responsáveis pelos grupos sanguíneos são as seguintes:

Absorção e eluição:

Consiste em cortar 6 cm do pêlo em estudo em três porções iguais, após ter sido lavado com sabão e éter, em seguida coloca-se cada porção em contacto com um anti-soro correspondente (anti-A, anti-B e anti-H), de títulos 128, 64 e 32 respectivamente em constante agitação durante 3 horas, etapa de absorção. Logo em seguida, lavam-se as porções de pêlo com uma solução salina. Adicionam-se as suspensões de eritrócitos a 0,2 % correspondentes ao anti-soro colocado inicialmente. Submetem-se as porções de pêlo ao contacto com os eritrócitos a uma temperatura de 50° C durante 10 minutos, assim está completa a etapa de eluição com a ajuda de vibrações ultrasónicas. Finalmente centrifuga-se a 120 G durante 2 minutos e observa-se a aglutinação formada.

Anticorpo marcado radioativamente:

O método utilizado para determinar anticorpos marcados radioativamente, descrito por BAETLHER e KAY, em 1973, baseia-se na reacção antígeno-anticorpo e pode ser resumido da seguinte forma: os anticorpos anti-A, anti-B e anti-H, marcados com iodo-131, são colocados em contacto com os três pedaços de pêlo previamente esmagados com uma prensa. Incubam durante um determinado tempo, em seguida cada pedaço é exposta a um exame radiográfico. Quando revelada a radiografia, o pedaço de pêlo que aparece identificado indica que o antígeno reagiu com o correspondente anticorpo, assim se conclui o tipo sanguíneo do fio em estudo.

3.3.2. Conclusão

O estudo do pêlo pode proporcionar uma infinidade de informações. Nenhuma destas informações pode ser usadas como **prova irrefutável** por si só.

O pêlo é usado para fazer um “backup” de outras formas de prova, como **confirmação** ou **adjuvante**. Como foi referido anteriormente, é tudo uma questão de probabilidades. O Cabelo deve ser utilizado como um **apoio a outras provas**.

Num estudo realizado pela FBI (*Federal Bureau of Investigation*) conclui-se que apenas em 11% dos casos de identificação positiva de indivíduos através do exame macro e microscópica de pêlos não correspondia nos testes DNA (SAFERSTEIN, 2004).

Há situações em que cabelo não é particularmente útil como elementos de prova. Em disputas domésticas, assassinatos e outros crimes em que a vítima e o suspeito vivem ou viveram juntos o estudo do pêlo cabelo é de pouca utilidade.

3.4. Vestígios biológicos forenses: o Sémen

O estudo dos fluidos seminais na cena do crime está directamente ligado a crimes de índole sexual. Sendo este de importância vital aquando da reconstrução do acto do crime e na identificação do agressor.

Além de caracterizar o contacto sexual, a pesquisa de esperma tem por objectivo **a individualização da evidência biológica para confronto com possíveis suspeitos** (SOUZA, 2000).

O sémen é segregado pelos órgãos reprodutores masculinos, sendo o suporte líquido dos espermatozóides.

Segundo Pinheiro (2008) este vestígio pode ser encontrado em manchas no vestuário, lençóis, almofadas, móveis, no chão, veículos, tapetes, entre outros.

O sémen, ante de secar, possui um odor alcalino muito característico e contém milhões de espermatozóides (aproximadamente 200 a 500) (ESPÍNDULA, 2006). Depois de secar, a mancha perde o seu odor, os espermatozóides morrem, adquire uma coloração branco acinzentada e por vezes amarelada e dando aos tecidos um efeito engomado.

Análises forenses a que o sémen pode ser sujeito:

- detecção de sémen (se de facto se trata de sémen ou não);
- identificação da sua origem (humana ou não);
- determinação do grupo sanguíneo;
- identificação do tipo de ejaculação (interna ou externa);
- determinações toxicológicas (detecção de drogas);
- exames genéticos (DNA).

3.4.1. Biologia do sémen

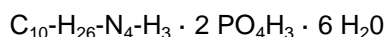
O sémen é um líquido de aspecto leitoso, opalescente, ligeiramente amarelo, sendo resultado de uma mistura de secreções originadas nos **testículos** (onde se produzem os espermatozóides), na **próstata**, **glândula seminal** e **glândulas bulbouretrais**. Os componentes do sémen derivam de duas fontes: esperma e líquido seminal. O líquido seminal, por sua vez, é produzido pela contribuição da vesícula seminal, próstata e glândulas bulbouretrais. Possui um pH de 7,2-7,3, na sua composição estão presentes essencialmente líquido seminal e espermatozóides, estes podem ser separados por centrifugação. (SALADIN, 2002).

O líquido seminal dos humanos contém um complexo de componentes orgânicos e inorgânicos, fornecendo um meio nutritivo e protegido para os espermatozóides no tracto reprodutivo feminino. O ambiente normal da vagina é hostil para as células do esperma, já que ele é muito ácido (devido à produção de ácido láctico da microflora), viscoso, e controlado por células imunes. Os componentes do plasma seminal tentam compensar este ambiente hostil.

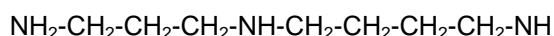
O líquido seminal é composto por proteínas e enzimas. Pequenas quantidades de globulinas, albumina, nucleoproteínas, proteases e uma amilase de pH 6-7, uma tromboquinase, coagulase, **fosfatase ácida (de grande valor pericial)**, fosfatase alcalina, fibrinolisa, fibrinogenase e colina (SALADIN, 2002). A colina está presente em todas as células, trata-se de uma base orgânica constituída por lecitina. Intervém no transporte de lipídios e no seu metabolismo formando os fosfolípidos.

Aminas básicas como a putrescina, espermina, espermidina e cadaverina são responsáveis pelo cheiro e sabor do sémen. Essas bases alcalinas neutralizam o ambiente ácido do canal vaginal (que é muito nocivo ao esperma), e protegem o DNA dentro do esperma da desnaturação ácida.

Entre as substâncias ricas em fósforo encontra-se o difosfato de espermina que possui a fórmula química geral seguinte:



O sémen humano contém 112-268 mg% de fosfato de espermina, uma das bases do sémen, a outra é a espermidina, que é o produto parcial da hidrólise da espermina.



A frutose é responsável pela mobilidade dos espermatozóides, uma vez que sem ela permaneceriam imóveis. Esta forma-se a partir de glicose sanguínea na presença de testosterona (hormona masculina). Como refere o **Tratado de Criminalística Tomo II de la Policía Federal Argentina** “a prova é o facto de que a frutose desaparece aquando da

castração de animais, e reaparece se é administrada esta hormona, a testosterona”, acrescenta ainda que: “existe uma relação entre a hipófise e as glândulas sexuais (produtoras de testosterona), sendo a formação da frutose dependente da testosterona, a concentração deste glícido no sémen depende, portanto, do funcionamento hipofisário”.

O sémen é ainda composto por substâncias não proteicas: Cloreto de Sódio, Dióxido de carbono, Fósforo inorgânico, Fósforo Ácido solúvel, Fósforo de espermina, Cálcio, Glicose, Ureia, Ácido Láctico e Colesterol (VANDER, 2002).

A ejaculação normal liberta entre 1.5 a 6 ml de fluido.

Espermatozóides

Os espermatozóides são células móveis constituídas por: cabeça e cauda ou flagelo com aproximadamente 50 a 70 μm . Calcula-se que no produto normal de uma ejaculação se encontrem cerca de 200 a 500 milhões de espermatozóides.

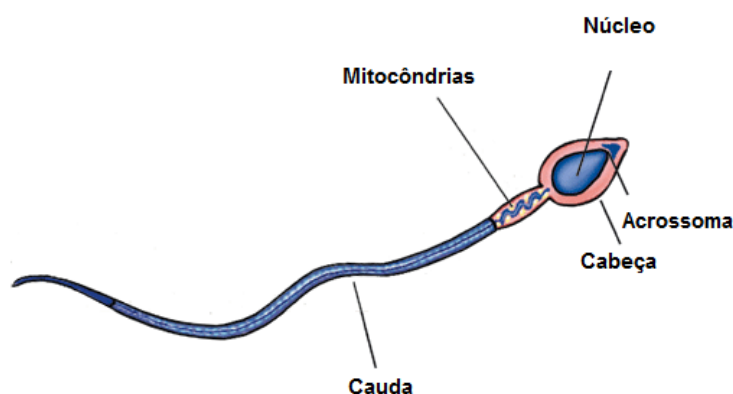


Figura 3-44 – Espermatozóide (Disponível em: <http://www.kalipedia.com>. Acesso a 22 de Setembro de 2008).

A cabeça do espermatozóide apresenta uma forma ovóide e representa aproximadamente 10% do total do comprimento do espermatozóide. Na zona da cabeça podem distinguir-se uma parte anterior (acrossoma) e outra posterior (núcleo), ambas cobertas por uma fina membrana.

3.4.2. Análise forense do sémen

Existe para a investigação de manchas seminais alguma variedade de exames. O estudo deste tipo de vestígio pode ser esquematizado desta forma:

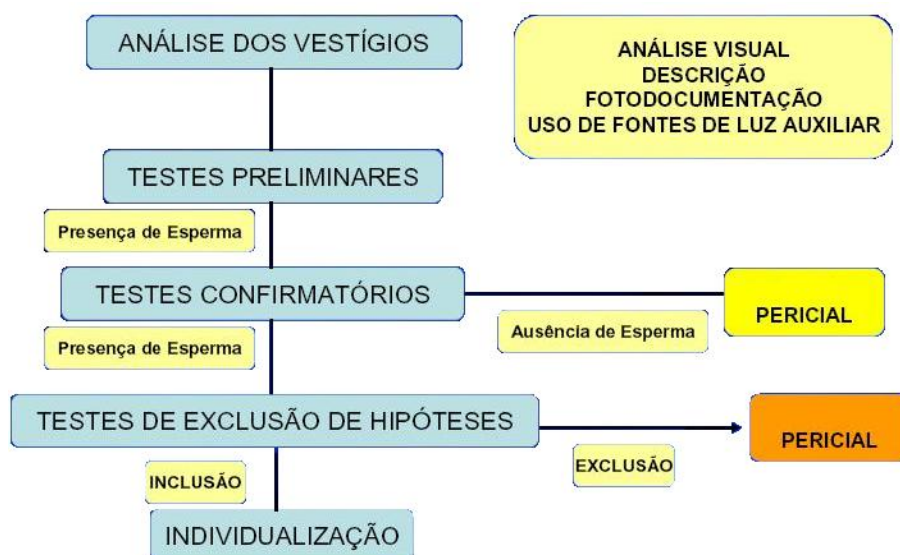


Figura 3-45- Esquematização do estudo do sémen (adaptado de SOUZA, 2000).

Diferentes materiais podem ser submetidos a análise, tais como: Swab (Zaragatoa) vaginal, Swab (Zaragatoa) anal, Swab (Zaragatoa) bucal, roupas a vários tipos de objectos (SCHULLER et. al., 2001).

Transporte e Cuidados a ter com este tipo de evidência

Dado que os exames que se realizam ao sémen se baseiam principalmente na presença de espermatozóides, é de cabal importância a protecção das amostras que os contenham. Muitos peritos na área consideram que **a presença de um espermatozóide completo é a única prova irrefutável da presença de sémen**. Por esta razão, estes vestígios devem manipular-se com extremo cuidado, no caso de manchas em vestuário, não se deve dobrar nem enrolar a zona manchada e sobretudo não submete-la a fricção (SCHULLER et. al., 2001; BOBADILLA, 1998).

Testes preliminares

- Métodos Físicos: Exame UV

Os métodos físicos consistem na exposição da mancha à radiação ultravioleta, a qual induzirá uma fluorescência característica com uma intensidade máxima de cerca de 4200mu. De qualquer forma, a maior dificuldade que apresenta **este método é que esta reacção não é exclusiva do sémen**, uma vez que produzirá resultados semelhantes com outros fluidos biológicos, como já foi explicado no ponto 3.1 que se refere aos métodos gerais de detecção de vestígios biológicos forense.

Esta técnica oferece grande utilidade prática principalmente para a análise de grandes superfícies onde se suspeita que houve um delito de índole sexual e não é possível determinar o local onde presumivelmente se encontrariam as manchas. Estas últimas emitiram fluorescência sobre fundos não fluorescentes, é por este facto que em alguns casos onde os artigos de vestuário contêm fibras brancas ópticas, é obtido o efeito inverso, ou seja, as manchas emitem uma fluorescência com intensidade menor em relação ao resto do artigo (AUVDEL, 1985).

- Métodos Enzimáticos (Fosfatase Ácida)

A Fosfatase Ácida é uma enzima, presente em grande quantidade no sémen, capaz de hidrolizar fosfatos orgânicos em meio ácido. A sua utilização forense baseia-se no facto que sua actividade no sémen é cerca de 500-1000 vezes maior que em qualquer outro fluido corporal. A detecção de sua atividade pode ser feita a partir de vários substratos (fenilfosfato de sódio, p-nitrofenil-fosfato, L(+)-tartarato como inibidor, α -naftil-fosfato, timolftaleína monofosfato de sódio). O último substrato é mais específico e elimina a necessidade de utilizar outras substâncias para diferenciar a fosfatase prostática de outras fosfatases, sendo o mais aconselhado. As fosfatases seminal e vaginal não podem ser discriminadas, pois vários fatores podem elevar o nível de fosfatase endógena nas mulheres, desta forma, a presença de grande quantidade de fosfatase é apenas indicativa da presença de esperma e não conclusivo (KIND, 1957).

- Métodos Cristalográficos: A Reacção de Florence

Este método baseia-se na formação de cristais de iodeto de colina, que se encontra presente no esperma sob a forma de fosforil-colina e lecitina (ESPÍNDULA, 2006).

O reagente de Florence é constituído por 2.54 gramas de Iodo metálico, 1.56 gramas de Iodeto de potássio e 30 mililitros de água destilada. Os cristais de Iodeto de Colina apresentam-se sob a forma de lâminas rombóides de cor pardo.

Embora a colina **não seja exclusiva do sémen**, esta análise manifesta-se de grande importância em amostras de esperma aspérmicas, principalmente porque não se conhecem outros fluidos que registem simultaneamente uma alta presença de colina e de fosfatase ácida como no esperma.

- Métodos Cristalográficos: Cristais de Barberio

Também é um teste apenas de preliminar ou presuntivo baseado na reacção frente ao ácido pícrico. Nesse teste cristais com aspecto de agulhas grossas de cor amarelada resultam de uma reacção aquecida do extrato da mancha com o ácido pícrico.

- Outros métodos de análise preliminar

O método de **cromatografia** em camada fina é utilizado principalmente quando não é possível visualizar um espermatozóide completo. Trata-se de uma técnica de separação de componentes de uma amostra. Os componentes das amostras são distribuídos entre duas fases, uma das quais permanece estacionária, enquanto a outra elui entre os interstícios ou sobre a superfície da fase estacionária. O movimento da fase móvel resulta numa migração diferencial dos componentes da amostra (POOLE, 1995).

A **eletroforese** também pode ser usada na detecção de sémen. Este é um método bidimensional que se realiza sobre papel combinando métodos electroforéticos com cromatográficos que permite a separação de proteínas com diferente peso molecular, no caso do sémen permite a separação da espermina dos outros aminoácidos presentes.

Testes Confirmatórios

- Exame a fresco e colorações

As amostras de sémen são examinadas microscopicamente a fresco e posteriormente fixadas e **coradas** para a identificação de espermatozóides.

Este exame pode ser considerado de confirmatório uma vez que, **a identificação de um espermatozóide íntegro é suficiente para determinar a presença de sémen.**

Existem várias técnicas de coloração que podem ser usadas para facilitar a visualização e identificação dos espermatozóides na amostra: May-Grünwald, May-Grünwald - Giemsa, azul de Loeffler, Hematoxilina-eosina - *Christmas Tree* (TEIXEIRA, 1998).

No entanto, deve ser tido em conta o facto de que há um grande número de indivíduos azoospermicos por patologias diversas ou por terem sido submetidos à vasectomia.

É muito comum detectar em amostras de sémen apenas porções de espermatozóides, só com cabeça ou cauda, mas devido à contaminação, muito comum neste tipo de vestígios, muitas vezes estas células são facilmente confundidas com esporos de fungos e bactérias (ESPÍNDULA, 2006).

- Método imunológico – PSA ou teste p30

A PSA (*Prostatic Specific Antigen*) é uma glicoproteína de cadeia simples, com PM=33-34 kDa e expressa em altos níveis no epitélio da próstata humana (WANG, 1979) sob o controle de andrógenos e progestinas (DIAMANDIS, 1994).

O nome PSA reflecte a ideia inicial de que a expressão da proteína era restrita à próstata. Pensava-se, até recentemente, que a PSA era produzida exclusivamente pelas células epiteliais da próstata, mas, a partir do emprego de metodologias mais sensíveis e da realização de estudos imunohistoquímicos, ficou evidente a presença desta proteína em uma variedade de tipos de tumores, tecidos sadios e fluidos biológicos femininos e masculinos, (DIAMANDIS; YU, 1997), sugerindo que ela possa ser funcional também fora da próstata.

Os métodos para sua determinação são baseados em reacções antigénio/anticorpo que se estendem desde reacções de precipitação até métodos mais sensíveis como, por

exemplo, ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) e imunocromatografia.

O ELISA é um teste imunoenzimático para detecção de anticorpos específicos baseado na interacção anticorpo-antígeno. O método utilizado para realizar o teste emprega um anticorpo conjugado com uma enzima para detecção do antígeno. Numa placa de superfície inerte com poços são adsorvidas as proteínas de interesse a investigar ou detectar. Em seguida faz-se uma lavagem com uma proteína inespecífica para que ocupe os poços livres. Adiciona-se uma solução de anticorpos primários específico para a proteína de interesse que se ligam a ela. Posteriormente é necessário retirar os anticorpos primários que não foram incorporados em nenhuma proteína, para isso faz-se uma nova lavagem. Seguidamente o produto é tratado com anticorpos secundários com enzimas acopladas responsáveis por produzir uma substância corada que permite a visualização da reacção. Procede-se a mais uma lavagem com o objectivo de eliminar os anticorpos secundários que não se ligaram aos anticorpos primários já existentes nos poços. Finalmente, adiciona-se o substrato de ligação para a enzima produzir a substância corada e, assim, através da avaliação da intensidade da cor de cada poço pode-se quantificar e verificar a presença de alguma substância de interesse (LEQUIN, 2005; PARIDA, 2001).

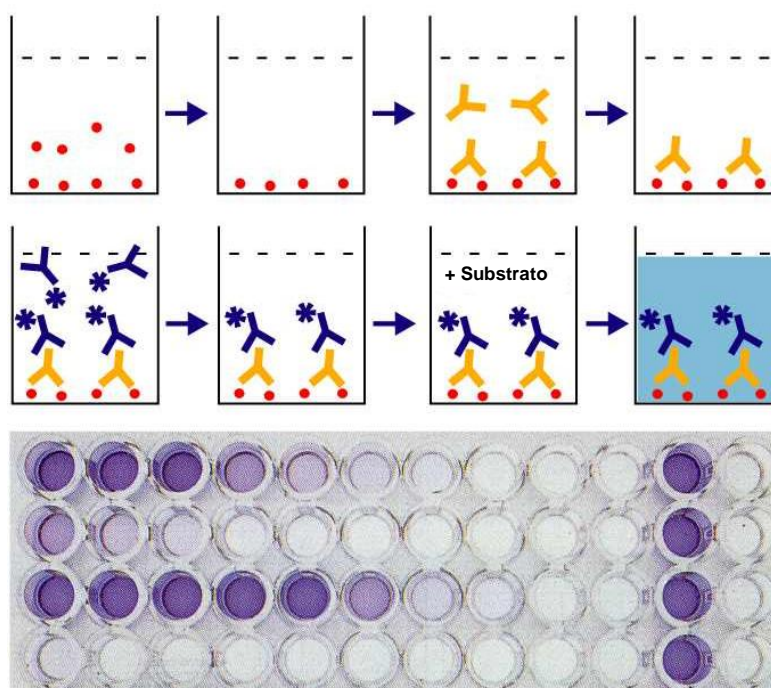


Figura 3-46 - Esquema ilustrativo do método de ELISA (Disponível em:

<http://microvet.arizona.edu/Courses/MIC419/ToolBox/elisa.html>, acesso a: 25 de Setembro).

Os testes imunocromatográficos utilizam uma membrana cromatográfica onde os anticorpos e as amostras se movem por capilaridade. O excesso de PSA em relação ao conjugado pode dar falso-negativo (efeito “hook” - o PSA livre chega à zona de reacção

antes do conjugado e liga-se ao anticorpo imobilizado sem corante). (HOCHMEISTER, 1999; SATO, et. al., 2002; KHALDI, et. al., 2004).

Existem ainda testes rápidos de detecção de sémen em diversos tipos de amostras que tem como princípio a Imunocromatografia enzimática um exemplo desses kits é o **RSID®SEMEN** comercializado pela *Galantos Genetics GmbH e Independent Forensics*.

Testes de identificação ou individualização

Para a identificação do indivíduo que deu origem à amostra biológica, seja sémen, sangue, saliva ou pêlo, impõe-se a sistemática adopção dos testes que demonstrem a presença de marcadores genéticos, desde há muito empregados, como, por exemplo, os do sistema ABO e a enzima fosfoglucomutase, mas praticamente abandonados nesta década em favor das análises de DNA, de inextinguíveis vantagens e que foram introduzidas rotineiramente na área criminal (TEIXEIRA, 1998a; 1998b).

3.5. *Vestígios biológicos forenses: os Dentes*

Os **dentes** são das evidências forenses mais importantes na identificação médico-legal, uma vez que são estruturas que resistem ao processo natural de putrefacção, ao calor, aos traumatismos e à acção de certos agentes químicos. Assim, os dentes são os vestígios mais usados em caso de incêndio, catástrofes com vários mortos, acidentes aéreos, afogamentos, corpos em elevado estado de putrefacção, entre outros (PINHEIRO, 2008) (MAGALHÃES, 2003).

Os dentes ou a polpa dentária são dos *restos postmortem* que mais se preservam no organismo ao longo do tempo. Além disso estas estruturas são específicas e únicas a cada indivíduo, mais uma vantagem que permite a identificação do corpo (MAGALHÃES, 2003) tal como a possibilidade de obtenção de material genético que permite a determinação do perfil genético de DNA (POTSCH et. al., 1992). Isto é possível devido a capacidade do dente em agir como uma cápsula protectora das células nucleadas da polpa dentária, de onde se extrai o material genético para esta análise.

Como já foi referido anteriormente, a Antropologia forense é área da Ciência Forense que se dedica ao estudo dos dentes, com o objectivo principal de identificação do cadáver, para isso usam técnicas ou métodos de reconstrução e comparação.

Magalhães (2003) afirma que entre as características individualizantes a analisar contam-se: “o número de dentes, as alterações morfológicas congénitas ou adquiridas (hábitos, profissão, entre outras), alterações da posição ou rotação, alterações patológicas (cáries) ou traumáticas, existência de tratamentos ortodônticos (almágamas, coroas, pontes, próteses fixas ou amovíveis) ” assim a análise destas estruturas possibilita, para além destas características, a determinação do sexo, da origem étnica e idade do cadáver.

O uso da radiologia demonstra-se bastante útil para obtenção das características da dentição, é um método muito usado pelos antropólogos comparando as radiografias da dentição do cadáver com Rx da possível vítima tiradas quando viva.

3.5.1. Determinação do sexo

O estudo dos dentes também permite determinar o **sexo** do indivíduo, uma vez que apresentam características específicas e compatíveis com as diversas fases de desenvolvimento da idade humana.

Um dos métodos usados tem como princípio a quantidade de ácido necessário para neutralizar a dentina alcalinizada em pó, através de uma simples titulação, uma vez que a quantidade de dentina é diferente no sexo feminino e masculino (MOURA NETO, 1998).

A análise do grau de mineralização dos dentes através da Radiografia panorâmica é outro método que permite distinguir o sexo, Saliba (1997) e seus colaboradores desenvolveram um estudo em que concluem que os dentes de indivíduos do sexo feminino apresentaram um grau de mineralização mais precoce do que os do sexo masculino, em quase todos os dentes analisados.

Através da biologia molecular é possível a determinação do sexo de forma inequívoca. A amelogenina é um dos *loci* utilizados que permite, através da técnica da PCR (Polimerase Chain Reaction), identificar o sexo de um indivíduo que tenha deixado determinado vestígio biológico, uma vez que, o locus da amelogenina apresenta um alelo de 106 pares de bases nas mulheres e um de 106 e outro de 112 pares de bases nos homens (AKANE et. al., 1992; JOBIM et. al., 2006).

Foram descritos alguns *loci* de STRs do cromossoma Y que têm sido usados para o esclarecimento de crimes sexuais em que existam secreções misturadas. É possível, através da análise dos *loci* deste cromossoma, presentes nos espermatozóides da secreção vaginal da vítima, identificar o violador de forma inequívoca, pois o material feminino da mistura em nada interferirá. De acordo com Jobim e seus colaboradores (2006), os principais *loci* deste sistema são: DYS19; DYS389 I e II; DY390, DYS391; DYS392 E DYS393.

3.5.2. Determinação da origem étnica

A análise das estruturas dentárias serve de base à determinação do fenótipo (**cor da pele**) assim distinguem a origem étnica do indivíduo.

Favero (1991) relata a existência de cinco tipos étnicos fundamentais: caucasiano, negro, mongólico, indiano e australóide.

Carvalho (1982) estudou a estrutura dos dentes associada com as diferentes origens étnicas e concluiu que praticamente toda a população europeia tem a superfície dos dentes incisivos lisa, enquanto os japoneses, e certos grupos mongolóides, essa superfície tem arestas.

O primeiro molar inferior dos caucasianos é mais comprido e tem forma mais cônica do que o molar dos negros, o qual é mais rectangular do que o dos mongolóides, que é mais redondo (GALVÃO, 2000),

3.5.3. Determinação da idade

A estimativa da **idade** do indivíduo também é determinável pela análise do desenvolvimento dentário.

Estudos têm demonstrado que, em relação aos ossos, os elementos dentários são as estruturas orgânicas que fornecem os melhores contributos para a estimativa da idade. Isto é explicado porque os dentes sofrem menos a acção de factores sistémicos e de desnutrição, que afectam extremamente o desenvolvimento e maturação dos ossos. O desenvolvimento dentário vai da vida fetal até por volta dos 21 anos de idade (SILVA, 1997).

3.5.4. Marcas de mordida

As **marcas de mordida** são outra forma de determinação das características individualizantes dos dentes. O seu estudo permite a revelação da arcada dentária.

Entende-se como marca de mordida a impressão causada unicamente pelos dentes ou outros elementos duros da boca (por exemplo: próteses dentárias moveis, aparelhos dentários entre outros), na pele de pessoas vivas, de cadáveres ou sobre objectos inanimados relativamente moles.

A forma típica da lesão provocada pela mordida é oval ou circular, como uma equimose, embora, há casos em que a marca se limita a uma pequena equimose difusa, dificultando a identificação de características dentárias específicas (MAGALHÃES, 2003).

Quando detectadas na pele, estas evidências significam que existiu um contacto violento entre agressor e vítima, são muito comuns em crimes contra a liberdade sexual, maus tratos em crianças, entre outros. Neste tipo de crimes os dentes são usados como arma de defesa (BOWERS et. al., 1997).

Após ser detectada a lesão provocada pela mordida esta vai ser analisada. Uma vez que as marcas de mordidas estão completamente associadas aos dentes, os pressupostos da sua análise são: “os dentes humanos são únicos e existe detalhe suficiente dessa singularidade na marca de mordida” (MAGALHÃES, 2003).

3.5.4.1. Estudo das Marcas de mordida

Existem várias metodologias para análises destes vestígios, por exemplo: análise métrica, a sobreposição de imagens digitais ou transparências, mas qualquer método usado se baseia em três passos: **obtenção de evidência** a partir da **vítima**; **obtenção de evidência** a partir do **suspeito**; **comparação da evidência**.

Obtenção de evidência a partir da vítima

Após a detecção da lesão, o primeiro passo é o **exame visual**. O exame visual tem como objectivo a descrição exhaustiva das características da marca da mordida. Esta

descrição deve incluir as seguintes características: localização, tamanho, forma (circular ou elíptica – resultado das arcadas dentárias superior e inferior; os dentes incisivos – marca em rectângulo alongado; os dentes caninos - forma triangular ou estrelada), orientação, cor, tipo de lesão (Equimose – provocada pela pressão dos lábios; Escoriações - marcas deixadas pelos dentes incisivos e caninos ou pelo palato; ou Equimoses de sucção -provocadas pela língua ou pelo vácuo).

Com o objectivo de documentar a análise das marcas de mordidas é fundamental o registo fotográfico da lesão. Este registo obedece a determinadas técnicas e metodologias especiais à captura deste tipo de evidência (incluir escala milimétrica, tirar fotografias em dias sucessivos, com objectivas e luzes diferentes, entre outras).

Para além da possibilidade de identificação da arcada dentaria do autor da mordida, análise cuidada deste tipo de evidência permite a obtenção de vestígios biológicos. Sempre que há uma mordida é depositada **saliva** no local da lesão (GALANTE, 2003) (MAGALHÃES, 2003). Portanto a sua colheita é fundamental e deve ser realizada logo numa fase inicial de forma a garantir a presença de células nucleadas oriundas da cavidade oral. Este vestígio biológico forense será descrito à frente.

Revela-se importante a obtenção de um **molde da marca** da mordida sempre que as lesões na pele da vítima o permitam. A moldagem destas lesões pode ser feita com o auxílio de materiais como o silicone ou o vinilpolisiloxano assim é possível preservar a marca em três dimensões.

Dependendo da situação pode ser necessário dissecar a área da mordida ou até fazer a excisão total da do tecido. O objectivo é preservar a evidência e assim facilitar as investigações (PEREIRA, 1994).

Obtenção de evidência a partir do suspeito

Feitas as colheitas e moldes das evidências detectadas na vítima prossegue-se à colheita das evidências dos possíveis suspeitos e assim obter dados de comparação que permitam a identificação do perpetrador.

Magalhães (2003) afirma que antes da colheita propriamente dita o(s) suspeito(s) deve ser sujeito a um **exame visual** às suas estruturas extra e intra-orais, em especial “à saúde dentária geral, à oclusão e à articulação temporo-mandibular, fazendo referência à existência de mobilidade dentária, de bolsas periodontais, de restaurações dentárias, diastemas, fracturas, cáries, tratamentos dentários realizados em datas próximas, antes ou depois da agressão, e função e tonicidade dos músculos da face e da mastigação.”

A fotografia é fundamental tal como na obtenção de evidência a partir da vítima.

Assim, devem ser capturadas fotografias de diversos ângulos, da face completa e de perfil, o interior da cavidade bucal também deve ser documentado fotograficamente, fotografias intra-orais das arcadas superior e inferior, vistas laterais e frontal dos dentes em oclusão são muito importantes para permitir a comparação.

A **saliva** e as **células da mucosa oral** têm também aqui um papel muito importante, a sua colheita é fundamental para comparação com as obtidas anteriormente. A colheita de sangue também é feita embora com menos frequência (BOWERS, 1997).

Deve ser feito também o molde de ambas as arcadas dentárias dos suspeitos em gesso. Estes modelos possibilitam as sobreposições fotográficas transparentes, à mesma escala das fotografias da marca de mordida original (MAGALHÃES, 2003).

Podem ainda ser executadas marcas de mordida experimental, em que os suspeitos mordem lâminas em cera, silicone, plasticina ou em qualquer num outro material em que os moldes dos bordos incisais dos dentes fiquem evidentes.

Comparação da evidência

Por fim, e obtidas todas as evidências tanto da vítima como dos possíveis agentes do crime só resta a sua comparação e assim concluir em relação à correlação entre as amostras, ou seja, assegurar um elevado grau de correspondência entre o tamanho e a posição dos dentes do possível perpetrador e as características identificadas na marca de mordida.

Feitas as análises métricas (forma, tamanho, posição dos dentes, individual e colectivamente) de ambas as evidências comparam-se os padrões dos dentes com traços similares e características apresentadas em fotografias de tamanho real. Fazem-se sobreposições transparentes de várias formas, actualmente a informática possibilita e facilita este método. Outros métodos consistem em comparações directas dos modelos do suspeito com fotografias da marca de mordida, comparação das marcas de mordida experimentais ou a utilização de imagens radiográficas (MAGALHÃES, 2003) (VANRELL, 2002).

Concluindo, a análise das marcas de mordidas é um trabalho para especialistas periciais. Contudo, é necessário ter presente que, a observação morfológica cuidada destas lesões é de fundamental importância pois possui a capacidade de orientar o resto da investigação. De nada adianta ir para os detalhes, quando a simples morfologia geral já exclui o suspeito.

As características individuais que aparecem nos dentes, e o seu exame combinado e simultâneo, permitem determinar o carácter pessoal de cada mordida quando comparada com outras.

3.6. *Vestígios biológicos forense: a Saliva*

As glândulas salivares presentes na cavidade oral têm como função a produção de **saliva**. A saliva é um importante fluido orgânico que desempenha inúmeras funções, intervêm na digestão dos alimentos, protege a cavidade bucal, gastrointestinal e orofaringe, diminui a acidez bucal, tem um papel fundamental na manutenção da hidratação do organismo, entre outras. O principal constituinte da saliva é água, mas contém componentes orgânicos, como enzimas, e minerais.

No que diz respeito à Ciência Forense, este fluido desempenha um papel fundamental na investigação de vários crimes, principalmente em crimes de homicídio, agressões ou crimes contra a **liberdade sexual** (abuso sexual e abuso de menores). Este vestígio detecta-se sobretudo em marcas de mordida, em que a saliva fica depositada sobre a superfície cutânea, como já foi referido (ANZAI-KANTO et. al., 2005). A saliva pode ainda ser detectada em cigarros, sobre selos postais envelopes que se colaram com saliva, entre outros (VILLANUEVA CAÑADAS, 2004; GITLITZ, 1974; SWEET, 1999).

Testes preliminares ou de orientação

Como já foi explicado anteriormente, a detecção das manchas de saliva pode fazer-se empregando uma simples técnica de *screening*, induzir a fluorescência através da incidência de luz de espectros diferentes (luz branca, luz ultravioleta e laser), este método dá um *feedback* imediato ao especialista forense no acto da investigação do crime (AUVDEL, 1987).

Quimicamente também é possível a detecção de saliva, pela pesquisa de **sulfocianeto de potássio** (outros líquidos orgânicos também contêm a substância) e de **ptialina** (ESPÍNDULA, 2006).

Testes de identificação ou individualização

A presença de saliva pode ser confirmada por espectroscopia de fluorescência, analisando a **amilase**. A amilase é uma glicoproteína com funções de enzima digestiva presente na saliva. As bandas obtidas a partir de amostras de saliva, quando analisadas com

espectroscopia de fluorescência são semelhantes às bandas obtidas da amilase em estado puro (EDGAR, 1992; YOUNG, 1997).

A Espectroscopia de fluorescência é a técnica que detecta o espectro da radiação emitida por um átomo ou molécula, quando esta relaxa do estado excitado para o estado fundamental, ou seja é o resultado da absorção de energia radiante e consequente emissão de parte desta energia sob a forma de luz. A forma de luz emitida tem, quase sempre, um comprimento de onda superior ao da luz absorvida (GUIMARÃES, 2006; YU, 2006).



Figura 3-47 - Exemplo de espectrofotômetro de fluorescência (Disponível em:

www.labinstcol.com/pdtos_espctro_fluor.htm, acesso a 27 de Outubro de 2008).

A detecção de saliva pode ser feita por imunocromatografia enzimática. Este tipo de testes detecta a presença da amilase **usando anticorpos monoclonais específicos** para a amilase salivar humana. São testes rápidos, de utilização simples e que detectam amostras escassas de saliva humana.

Exemplos deste tipo de testes são o **SALigAE® Test**, produzido pela *Abacus Diagnostics* ou o **Rapid Stain Identification of Human Saliva (RSID®)**, comercializado pela *Galantos Genetics GMBH*.

O RSID® é um ensaio imunocromatográfico que utiliza a combinação de anticorpos monoclonais conjugados e anticorpos policlonais anti- α -amilase salivar humana de fase sólida, com elevada especificidade e sensibilidade. A α -amilase presente na saliva liga-se ao anticorpo monoclonal, formando um complexo estável, o qual flui pela área adsorvente do kit e se liga aos anticorpos policlonais na área de reacção positiva, surgindo uma banda com coloração vermelha. Na ausência da α -amilase, não haverá o desenvolvimento de banda na área de reacção, indicando resultado negativo (BENJAMIN, 2008).

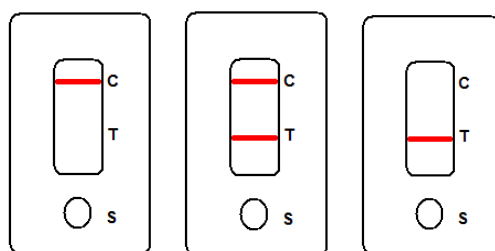


Figura 3-48 - RSID resultados possíveis. A primeira figura à esquerda representa um teste negativo, ou seja não há detecção de saliva humana na amostra uma vez que é visível apenas a linha vermelha na posição C – Controlo. Na segunda figura são visíveis duas linhas vermelhas, uma na posição de Controlo - C e outra na posição do Teste – T, isto indica a presença de saliva humana na amostra, teste positivo. Por fim na figura mais à direita está representado um teste inválido, uma vez que surgiu apenas uma linha vermelha na posição T.

Testes de Identificação individual

Depois de detectada a mancha de saliva e feita a recolha é possível a análise ao **DNA genómico**, uma vez que na saliva existem células do epitélio bucal estas células permitem a identificação, por PCR, dos marcadores de DNA do individuo de quem procede a amostra (VILLANUEVA CAÑADAS, 2004; Sweet et. al., 1996; Anzai-Kanto et. al., 2005).

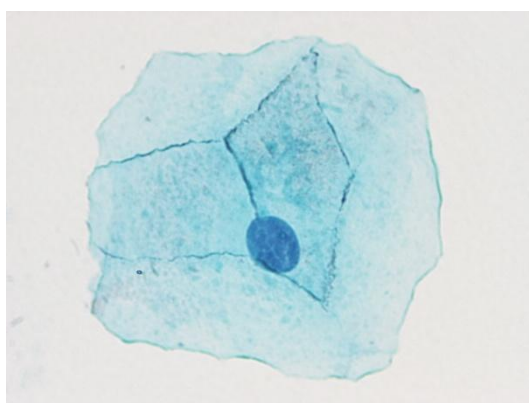


Figura 3-49 - Célula do epitélio bucal (Disponível em: www.papquick.com acesso a 16 de Novembro).

A determinação do grupo sanguíneo ABO também é exequível em amostras de saliva. É uma técnica directa de observação da reacção antigénio-anticorpo, mediante a titulação dos anticorpos não fixados à amostra de saliva (ESPÍNDULA, 2006).

3.7. Vestígios biológicos forenses: os Ossos

“Os esqueletos falam, tem é que se saber decodificar o que lá está” (CUNHA, 2008).

Dentro do ramo das Ciências Forenses, a Antropologia Forense tem sido cada vez mais utilizada de forma sistemática como instrumento eficaz na resolução de investigações criminais (GRISBAUM UBELAKER, 2001).

O estudo dos ossos em Ciência Forense é muito importante na identificação de cadáveres ou restos cadavéricos provenientes de desastres em massa³ (explosões, naufrágios, acidentes de viação, actos de terrorismo, guerras ou catástrofes naturais em que se verifica carbonização ou destruição maciça do corpo como vulcões, sismos, avalanches, tsunamis) (PRINZ, 2007) cadáveres abandonados em avançado estado de decomposição ou mutilados/desfigurados em que a identificação visual é impossível, corpos mumificados ou cujas marcas dactilares tenham sido destruídas (BYERS, 2002; UBELAKER, 2000; MANN, 1990). Este estudo permite distinguir o sexo, idade, altura, lateralidade, ancestralidade e raça do cadáver, além de doenças ou alterações biológicas ocorridas ao longo da vida do indivíduo e marcas de stress ocupacional, tudo com o objectivo final da identificação morfológica. A data, causa e circunstâncias de morte são outros dos objectivos do estudo dos ossos (MAGALHÃES, 2003; KEMKES-GROTTENTHALER, 2005; CHINAPPEN-HORSLEY, 2007). Cunha (2008) afirma conseguir determinar o “perfil biológico, dizer se era um homem ou uma mulher; se era uma criança, um adolescente ou um adulto; se era um caucasiano, africano ou asiático; se era alto ou baixo; se teve alguma doença que deixou vestígios nos ossos; se tinha algum problema na locomoção ou se tem alguma marca de intervenção cirúrgica. Com todos esses dados consigo identificar. Não há dois esqueletos iguais.”

Embora a principal tarefa da Antropologia Forense consista na determinação da identidade do falecido, actualmente os Antropólogos forenses são solicitados para dar pareceres técnicos sobre o tipo e tamanho da arma utilizado em determinados crimes violentos.

O estudo genético também é possível e permite a identificação positiva de ossos. Este estudo depende do estado de preservação da amostra, o qual depende de vários factores: do tempo decorrido desde a morte, factores ambientais (humidade e a temperatura), patologias (como por exemplo osteoporose ou simples fracturas), tamanho,

³ Situação que, resultante da mesma ocorrência, provoca um número de vítimas superior à capacidade de resposta das instituições locais.

densidade e fragilidade dos ossos, factores geológicos (acidez, composição química, expansão ou pressão do solo), a idade dos indivíduos (WALKER, 1995; NAWROCKI, 1995; PINHEIRO, 2008).

Determinar identidade do indivíduo

- **Origem dos restos (espécie - humana, animal, vegetal, outra) –**

A primeira etapa do processo de análise deste tipo de vestígio é a determinação da **espécie** dos restos cadavéricos. Magalhães (2003) considera que, geralmente “uma observação atenta do(s) osso(s) permite fazer o diagnóstico, existindo contudo certas técnicas a que pode ser feito recurso como sejam a determinação do seu peso, da sua densidade ou índice medular, ou a análise das suas características histológicas, radiológicas ou imunológicas”. A avaliação dos **Canais de Havers** é um dos critérios usados para auxiliar a identificação da origem do vestígio. Os Canais de Havers são estruturas encontradas no interior dos ossos e componentes estruturais dos mesmos. Microscopicamente, constata-se que os ossos humanos têm forma elíptica ou circular, diâmetro superior a 3mm e densidade de 8 a 10 por mm² (ENCYCLOPEDIA OF FORENSIC SCIENCES, 2000). Os ossos animais têm forma circular, diâmetro inferior a 25mm e densidade superior a mencionada.

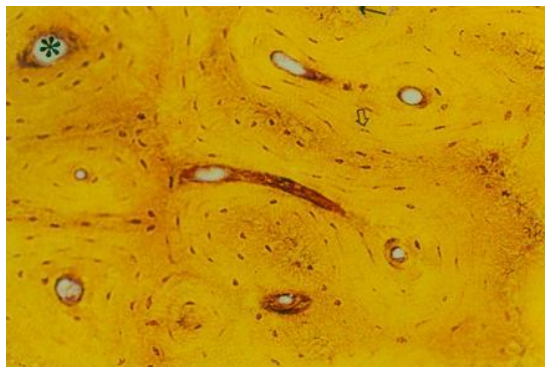


Figura 3-50 - Canais de Havers (Disponível em: acd.ufrj.br/labnac/figura35.htm; acesso a 13 de Julho de 2008).

- **Características gerais de identificação:**

- **Sexo**

Estudos macroscópicos e morfométricos dos ossos permitem distinguir os sexos em virtude do dimorfismo sexual. Por exemplo os ossos da bacia possuem características morfológicas que permitem distinguir os

sexos (os ossos dos homens são mais robustos com maior predominância do volume epifisário relativamente ao volume da diáfise e com mais marcas das inserções musculares do que no caso das mulheres). Outros critérios que permitem esta distinção são a capacidade craniana (1.400cm^3 ou mais para os homens e 1.300cm^3 para as mulheres); o ângulo dos arcos superciliares (salientes para os homens e suaves para as mulheres); o ângulo subpubiano (em formato de “v” para os homens e em formato de “u” para as mulheres) e o corpo do púbis (triangular para os homens e quadrangular para as mulheres) entre outros (BUIKSTRA, et. al., 1994).

- Origem étnica

O estudo da forma do crânio, dos índices cefálicos, tíbio-femural, rádio-umeral e do ângulo facial (prognatismo facial inferior, conformação do malar ou do palato, proporção das superfícies orbitárias e nasal, características da abertura do nariz e do bordo nasal inferior e certos estigmas dentários) permite determinar a origem étnica, embora se trate de uma determinação bastante complexa (MAGALHÃES, 2003; UBELAKER, 2000).

- Idade e altura

O método mais seguro para averiguar a idade é a *radiografia dos ossos*, vez que identifica com grau de aproximação significativo. Existem tabelas que indicam a idade aproximada pela morfologia e densidade dos ossos. A radiografia da mão é indicada para verificar idades próximas dos 18 anos e a partir do 25 a do crânio, devido a fusão dos ossos (SAUKKO, 2003).

- **Características individualizantes (sinais particulares)**

Considera-se como características individualizantes mal-formações, calos, deformações ósseas de natureza congénita ou adquirida por meio de acidente ou patologia que quando analisadas permitem a identificar o sujeito (MAGALHÃES, 2003).

Determinar data da morte;

A determinação da data da morte pode ser uma tarefa bastante complexa, uma vez que, a decomposição cadavérica e até a esqueletização dificultam este objectivo.

Entre as metodologias orientadoras que permitem determinar a data de morte estão a avaliação da fase de decomposição cadavérica, o estudo e quantificação de compostos químicos dos ossos e suas modificações (relação entre matéria orgânica e inorgânica, por análise térmica diferencial ou por análise termo-gravimétrica, mas esta também dependente do local onde os ossos se encontravam) (BURNS, K. 1999; MAGALHÃES, 2003).

Determinar causa da morte;

A Antropologia Forense contribui para o conhecimento da causa da morte (CUNHA, 2008).

Traumatismos com fracturas ou ferimentos por armas de fogo ou, ainda, intoxicações crónicas por arsénio deixam marcas físicas nos ossos que quando estudados permitem obter dados para o esclarecimento da causa da morte (BYTHEWAY, 2007).

Interpretar as circunstâncias da morte.

A interpretação relativa às **circunstâncias da morte** é uma tarefa de crucial importância na reconstituição do acto do crime. Geralmente é um processo complicado e que nem sempre se obtêm as respostas conclusivas.

Esta tarefa normalmente é limitada à análise e observação da “existência, ou não, de sinais de violência e da interpretação da vitalidade de certas lesões (diagnóstico diferencial com lesões pós-mortem provocadas por animais ou outros elementos da natureza - tafonomia)” (MAGALHÃES, 2003).

3.8. Outros vestígios biológicos forenses

Outros vestígios biológicos como urina, mecónio, fezes, leite, colostro, restos fetais, entre outros, também possuem interesse médico-legal e criminalístico. Embora com interesse inferior aos vestígios desenvolvidos atrás, justifica-se uma breve referência a alguns deles.

As manchas de **urina** revelam-se bem sobre os tecidos por fluorescência de cor branco celeste à luz de Wood (“luz negra”). A análise macroscópica da mancha de urina auxilia na sua identificação, uma vez que possui um odor característico e cor amarela esverdeada.

A natureza da mancha pode ser confirmada através dos seus compostos maioritários: a ureia, pela acção da urease, creatinina, mediante a acção do reagente de Jaffé (ESPÍNDULA, 2006).

Na urina também são secretados aglutinogénios AB, portanto permite testes de identificação específicos por reacções antigénio-anticorpo (VILLANUEVA CAÑADAS, 1996).

No que diz respeito à biologia molecular forense, os principais materiais submetidos a análise de DNA são: sangue, sémen, fios de cabelo (com raiz), tecidos, ossos e órgãos; embora, outras fontes como **urina**, **saliva** e **fezes** também podem ser analisadas mas deve-se ressaltar que somente células nucleadas servem para genotipagens de DNA nuclear (LEE et. al., 1991; PINHEIRO, 2003).

No caso da **urina**, esta **não contém células na sua constituição**, mas transporta **células epiteliais das vias urinárias que possuem DNA**; por outro lado a **urina** possui bactérias e outros agentes contaminantes que dificultam a obtenção de resultados.

Em relação às **fezes**, o estudo do DNA é ainda mais difícil uma vez que na grande maioria das vezes, não possuem material genético passível de ser analisado, além disso a sua composição tem um efeito contaminante (PINHEIRO, 2003).

As **fezes** podem ser detectadas por um exame macroscópico uma vez que possuem um odor característico, que se deve a produção de **indóis**, **escatóis** e **tióis** (compostos ricos em enxofre) pela acção bacteriana. O estudo das fezes permite obter informações acerca dos hábitos alimentares e dieta do indivíduo.

O **mecónio** é definido como: matéria mole, pastosa, com coloração castanho-esverdeada, composta por gorduras, muco e bÍlis, contida no intestino do feto e que o recém-nascido expulsa pelo ânus nas primeiras 6 a 12 horas que se seguem ao nascimento mas por vezes é eliminado logo durante o parto, em especial se há sofrimento fetal. A investigação do mecónio pode surgir em casos de aborto, partos clandestinos e infanticídio

(CLARK, 2006; PICHINI et. al., 2005).

Macroscopicamente, as manchas de mecónio apresentam um aspecto oleoso ou viscoso, cor amarelo-esverdeado, normalmente surgem contaminadas com sangue, líquido amniótico ou restos placentários. A luz negra também permite a sua identificação, produzindo fluorescências diversas, dependendo dos contaminantes (VILLANUEVA CAÑADAS, 1996).

As técnicas analíticas de identificação do mecónio baseiam-se na identificação dos seus constituintes (gastrointestinais, hepáticos, biliares e amnióticos). Uma prova elementar e muitas vezes decisiva é o **exame microscópico** de um macerado da mancha, permitindo a detecção de *corpúsculos mecónicos*, de cor amarelo-esverdeado, assim como cristais de colesterina, células de diversas procedências e alguns pêlos transparentes.

Os componentes bioquímicos do mecónio (ácidos biliares e colesterina) podem ser identificados tanto na visualização microscópica por adição de ácido nítrico ou sulfúrico ou mediante reacções mais específicas, por espectrofotométricas, tanto no espectro visível como infravermelho (VILLANUEVA CAÑADAS, 1996).

Segundo Pinheiro (2003), o **material fetal** é um vestígio forense usado, principalmente em casos de “investigação biológica de maternidade em que há suspeita do feto ter sido abandonado pela mãe ou quando a gravidez tiver resultado de violação, se tiver sido feita a interrupção da mesma”⁴. Exames de biologia molecular também são possíveis de realizar com estas amostras, visto conterem quantidades consideráveis de DNA. Para isso, as amostras devem ser devidamente armazenadas a baixas temperaturas (congelação) no sentido de evitar a sua degradação. Não é recomendado o uso de conservantes (álcool ou formol), pois estes produtos alteram de uma forma irreversível os componentes celulares (PINHEIRO, 2008).

O **Leite e Colostro** são outros vestígios que podem ser detectados e analisados na investigação de um crime. Nas análises **macroscópicas**, a mancha de leite é bem definida e de cor amarelada já o colostro tem uma coloração amarela acinzentada sendo nítida nos bordos. Este tipo de manchas pode ainda ser identificado através de exame microscópico, em que se verifica a presença de células ricas em glóbulos de gordura e granulações proteicas ou através do exame químico com guaiacol, hidroquinona, pirocatequina e iodo (ESPÍNDULA, 2006).

⁴ Artigo 42º do Código Penal Português.

3.9. Referências bibliográficas

ALBERTIN, R. [et. al.] - Quimiluminescência orgânica: alguns experimentos de demonstração para a sala de aula. Química Nova. 21:6 (1998).

AMERICAN BOARD OF FORENSIC ODONTOLOGY, INC. - Body Identification Guidelines. J Am Dent Assoc. 125 (1994) 1244-1254.

Anatomy and Physiology. Saladin. K. 2nd. Ed. Nova Iorque: McGraw Hill, [2002].

Antropologia e Odontologia Forenses. Magalhães, T. Porto: Edição Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, [2003].

ANZAI-KANTO, E.; HIRATA, M.; HIRATA, R.; NUNES, F.; MELANI, R.; OLIVEIRA, R. - DNA extraction from human saliva deposited on skin and its use in forensic identification procedures. Braz. oral res. 19: 3 (2005) 216-22.

AKANE, A.; [et. al.] - Sex determination of forensic samples by dual PCR amplification of an XY homologous gene. Forensic Sci. Int. 52 (1992) 143-148.

Apontamentos sobre o conceito e extensão da medicina legal. Costa, E. Disponível em: www.geocities.com/rjaf2000/mljpc.htm [acesso a 18 de Agosto de 2008].

AUVDEL, M.J.- Comparison of Laser and Ultraviolet Technology used in the Detection of Body Secretions. J. Forensic Sci., 32 (1987) 326-345.

BAECHTAL, F. SAMUEL - Immunological Methods for Seminal Fluid Identification, Proceedings of a Forensic Science Symposium on the Analysis of Sexual Assault Evidence. Seminal Cytology. 6-8 (1983) 83-90.

BAR, W.; [et. al.] - DNA recommendations further report of the DNA Commission of the ISFH regarding the use of short tandem repeat systems. International Society for Forensic Haemogenetics. Int. J. Forensic Med. 110: 4 (1997) 175-176.

BAR-CHAMA, N.; LAMB, D.J. - Evaluation of sperm function. What is available in the modern andrology laboratory. Urologic Clinics of North America. 21: 3 (1994) 433-46.

BARROS, Pedro – A antropologia forense vista por Eugénia Cunha. Jornal O Aveiro. (02 de Maio de 2008).

BENJAMIN C. M.; PANG, PH.D.; BOBBIE K.; CHEUNG, M. - Applicability of Two Commercially Available Kits for Forensic Identification of Saliva Stains. Journal of Forensic Sciences. America: American Academy of Forensic Sciences. 53: 5 (2008) 1117 – 1122.

BERNSTEIN, D.; TYLER, J. DRISCOLL, G. - A comparison of WHO and Tygerberg strict criteria for assessing humanspermatozoal morphology. Australian Journal of Medical Science. 16: 3 (1995) 115-117.

Bluestar Forensic User's Manual. ROC Import Group, Monte-Carlo. Disponível em www.bluestar-forensic.com [acesso a 23 de Outubro 2008].

Bodies of Evidence. Innes, B. Londres: Amber Books, [2000].

BUCHNER, A. - The identification of human remains. Int Dent J. 35: 4 (1985) 307-311

BUDOWLE, B.; LEGGITT, J. L.; DEFENBAUGH, D. A.; KEYS, K. M.; MALKIEWICZ, S. F. - The Presumative Reagent Fluorescein for Detection of Dilute Bloodstains and Subsequent STR Typing of Recovered DNA. J. For. Sci. 45: 5 (2000) 1090-1092.

BUIKSTRA, J.; UBELAKER, D. (eds). - Standards for data Collection from human skeletal remains. Arkansas Archaeological Survey Research Series. 44 (1994).

BRACKETT, J.W. - The Acid Phosphatase Test for Seminal Stains. J. Crim. Law, Criminology and Pol. Sci. 47(D.L.1999) 717.

BYTHEWAY, J. - Forensic Anthropology and Medicine: Complementary Sciences From Recovery to DILBECK, L. - Use of Bluestar Forensic in Lieu of Luminol at Crime Scenes. Journal of Forensic Identification. 56: 5 (2006) 706.

CHANG, T. - Proceedings of a Forensic Science Symposium on the Analysis of Sexual Assault Evidence. Seminal Cytology. (1983) 45-56.

Chromatography today. Poole, C.F.; Poole, S.K. New York: Elsevier Science Publishers Company Inc., [1995].

Criminalistics: An Introduction to Forensic Science. Saferstein, R. 8th Ed. New Jersey: Pearson Education Inc., [2004].

CHINAPPEN-HORSLEY, U.; BLAKE, G.; FOGELMAN, I.; SPECTOR, T. - A Method for Determining Skeletal Lengths from DXA Images. BioMed Central Musculoskeletal Disorders. 8:113 (2007).

Clinical Diagnosis & Management by Laboratory Methods. HENRY, B. 20th Edition. USA: Saunders, [2001].

Color Atlas of Biochemistry. Koolman, J., Roehm, K. H. 2nd Edition. New York: Thieme, [2005].

Compêndio de Medicina Legal. Carvalho, H.V. [et. al.]. 2ª ed. [S.l.]: Ed. Saraiva, [1992].

Completamente Química: química orgânica. Fonseca, M. R. M. São Paulo: FTD, [2001].

Conceitos e Noções Históricas em Odontologia Legal. Odontologia Legal e Antropologia Forense. Vanrell, J.P. 1a Ed. Guanabara: Editora Guanabara Koogan S.A., [2002].

Crime Science: Methods of Forensic Detection. Nickell, J.; Fischer, J. Lexington: University of Kentucky Press, [1999].

Crime Scene and Evidence Photographer's Guide. Staggs, S. 2ª ed. [S.l.]: Temecula, CA, [1999].

CUNHA, E. - A Paleopatologia como factor de individualização em Antropologia Forense. Lição de síntese. Provas de agregação. Coimbra: FCTUC, 2001.

DIAMANDIS, E. P.; YU, H.; SUTHERLAND, D. J. - Detection of prostate-specific antigen immunoreactivity in breast tumors. Breast Cancer Res Treat. 32:3 (1994) 301-310,.

DIAMANDIS, E. P.; YU, H. - Nonprostatic sources of prostate-specific antigen. Urol. Clin. North Am. 24:2 (1997) 275-282,.

DNA and Other Polymorphisms in Forensic Science. Lee, H. C.; Gaensslen, R. E. St. Louis: Mosby Yearbook, [1990].

DURIĆ, M.; RAKOCEVIĆ, Z.; DONIĆ, D. - The reliability of sex determination of skeletons from forensic context in the Balkans. Forensic Sci Int. (2005).

DUPRÉ, D. B. - Blood or Taco Sauce? Journal Of Chemical Education. 73: 1 (1996).

Cause of Death. Journal of Forensic Sciences. America: American Academy of Forensic Sciences. 52: 3 (2007) 746 – 747.

EDGAR, W. M. - Saliva: its secretion, composition and functions. Br. Dent. J. 172 (1992) 305-312.

Estimativa da Idade pelo Exame dos Dentes. Compêndio de Odontologia Legal. Silva, M. 1a Ed. [S.l.]: Medsi Editora Médica e Científica Ltda. (1997) 125-40.

EVANS, K. T.; KNIGHT, B. Forensic radiology. Br J Hosp Med. 36: 1 (1986) 14-20.

Finding Trace Evidence. in Mute Witnesses: Trace Evidence Analysis. Bisbing, R. Houck, Max. San

Diego, California: Academic Press, [2001].

Forensic Anthropology training manual. Burns, K. New Jersey: Prentice Hall, [1999].

Forensic Dentistry. Cameron, J.N. London: Churchill Livingstone, [1973].

Forensic Osteology. Advances in the identification of Human Remains. CHARLES C. THOMAS. 2nd edition. [S.I.]: Reichs, K., [1998].

Forensic Pathology. Pekka S.; Knigh B. 4ª Edição. London: Edward Arnold, [2003].

Forensic Pathology. Dimaio. 2ª Edição. London: CRC Press, [2001].

GALVÃO, L.C.C. [et. al.] - Aspectos das cúspides do 1º molar inferior em leucodermas, faiodermas e melanodermas. Rev. IPEB-BA, (2000).

GITLITZ, P.H.; SUNDERMAN, W.J.; HOHNADDEL, D.C. - Ion-exchange chromatography of amino acids in sweat collected. Clin. Chem. 20 (1974) 1305-1312.

GROSS, A. M.; HARRIS, K. A.; KALDUN, G. L. - The Effect of Luminol on Presumptive Tests and DNA Analysis using the Polymerase Chain Reaction. J. For. Sci. 44: 4 (1999) 837-840.

GUFFEY, J. - Tecnología Laser: Revolucionando el trabajo en el Sitio del Suceso. Ciencia Forense.cl Revista On-Line de Criminalística (2008).

GUIMARÃES, A.E.; [et. al.] - Spectroscopy: A technique for doping control. Spectroscopy. 20 (2006) 185-194.

GUSTAFSON, G. - Age determination on teeth. J Amer Dent Assoc. (1950) 41-45

GRISBAUM, G.; UBELAKER, D. - An analysis of Forensic Anthropology cases submitted to the Smithsonian Institution by the Federal Bureau of Investigation from 1962 to 1994. Smithsonian Contributions to Anthropology. 45: 1-15 (2001).

Hematología forense y otras técnicas serológicas. Ambriz, F. México: Editorial PORRUA, [1991].

Hidden Evidence: Forty True Crimes and how Forensic science solved them. Owen, D. Buffalo: Firefly Books Inc., [2000].

HOCHMEISTER, [et. al.]. - Evaluation of Prostate-Specific Antigen (PSA) Membrane Tests for the Forensic Identification of Semen," J. For. Sci. 44 (1999) 1057.

HOCHMEISTER, M.; BUDOWLE, B.; SPARKES, R.; RUDIN, O.; GEHRIG, C.; THALI, M.; SCHMIDT,

L.; CORDIER, A.; DIRNHOFER, R. - Validation studies of na immunochromatographic 1-step test for the forensic identification of human blood, J. Forensic Sci. 44 (1999) 597–602.

Identificação humana. Galante Filho, H.; Figini, A.; Reis, A.; Jobim, L.; Silva M. 2.Ed. Campinas: Millennium, [2003].

INGEMANN-HANSEN, O.; BRINK, O.; SABROE, S.; SORESENSEN, V.; CHARLES, A.V. - Legal aspects of sexual violence--does forensic evidence make a difference? Forensic Sci Int. 180: 2 (2008) 98-104.

Introduction to Forensic Anthropology. Byers, S. Boston: Allyn & Bacon, [2002].

Introduccion a la Antropologia Forense - Analisis e identificación de restos oseos humanos. Cuenca, J.V.R. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia, [1994].

IRVINE, D.; AITKEN, R.J. - Seminal fluid analysis and sperm function testing. Endocrinology & Metabolism Clinics of North America. 23: 4 (1994) 725-48.

IWERSEN, S.; SCHMOLDT, A.; SCHULZ, F.; PÜSCHEL, K. - Evidence of gestational heroin exposure by comparative analysis of fetal and maternal body fluids, tissues, and hair in a heroin-related death. Journal of analytical toxicology. 22: 4 (1998) 296-298.

Investigación de la muerte. Echazu, D. 2ª Ed. [S.l.]: Editorial Policial Bs. As., [1983].

JEFFEREYS, A.J., BROOKFIELD, J.F.Y., SEMEOR, F.R. - Positive identification of an immigration test-case using human DNA fingerprints. Nature. 31 (1985) 818-819.

JOBIM, L.; JOBIM, M.; BRENNER, C. - Identificação Humana pelo DNA: Investigação de Paternidade e Análise de Casos Forense. Identificação Humana. Porto Alegre: Sagra Luzzato. (2006) 237-303.

KHALDI, N.; MIRAS, A.; BOTTI, K.; BENALI, L.; GROMB, S. Evaluation of three rapid detection methods for the forensic identification of seminal fluid in rape cases. Journal of Forensic Sciences. 49: 4 (2004) 1-5.

KAYE, S. - Identification of Seminal Stains. J. Crim. Law, Criminology and Pol. Sci. 38 (1947) 79.

KIND, S. - The Use of the Acid Phosphatase Test in Searching for Seminal Stains. J Crim. Law, Criminology and Pol. Sci. 47 (1957) 597.

KENT, E. J.; ELLIOT, D. A.; MISKELLY, G. M. - Inhibition of Bleach-induced Luminol Chemiluminescence. J. For Sci. 48: 1 (2003) 64-67.

KEMKES-GROTTENTHALER, A - The short die young: The interrelationship between stature and

longevity-evidence from skeletal remains. Am JPhys Anthropol. 128: 2 (2005) 340-7.

KROGMAN, W.M. - Craniofacial growth and development: an appraisal. J Amer Dent Ass. 87: 5 (1955) 1037-1043.

KRISTEN D. P. - McCrone Associates, Westmont, IL - A Microscopical Study of Exotic Animal Hair: Part 1, modernmicroscopy on line, (2004).

Laboratory manual for the examination of Human semen and Sperm-Cervical mucus interaction. WHO. 3rd Ed. Cambridge: University Press, [1992].

Laboratory testing in the evaluation of male infertility. A rational approach. Sigman, M. [S.l.;s.n.], [1993].

LAUX, D. - Effects of Luminol on the Subsequent Analysis of Bloodstains. J. For. Sci. 36: 5 (1991) 1512-1520.

LARK, M.; CLARK, D. - Meconium Aspiration Syndrome. eMedicine.com, Inc. (2006).

LEE, H.C.; GAENSSLEN, R.E.; BIGBEE, P.D.; KEARNEY, J.J. - Guidelines for the Collection and preservation of DNA evidence. J. Forensic Ident. 41: 5 (1991) 341-345.

LEFEBVRE-DESPEAUX, J., President of ROC Import Group, Monte-Carlo. Personal communications, 2005.

LEQUIN, R. "Enzyme immunoassay (EIA)/enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)." Clin. Chem. 51:12 (2005) 2415–2418. Disponível em: www.doi:10.1373/clinchem.2005.051532. PMID 16179424 [acesso a 12 de Agosto de 2008].

MANN, R.; UBELAKER, D. - El Antropologo Forense. Boletín de la Agencia Federal de Investigaciones (FBI), (1990). Disponível em: <http://medstat.med.utah.edu/kw/osteo/forensics/> [acesso a 05 de Abril de 2008.]

Manual de INTERPOL Sobre el Intercambio y la Utilizacion de Datos Relativos al ADN : Recomendaciones del Grupo de Expertos en ADN de Interpol. Schuller, W.; Fereday, L.; Scheithauer R. 1st Ed. Lyon: Interpol, [2001]

M-CSI Criminal. Pinheiro, M. Porto: Edições Universidade Fernando Pessoa, [2008].

Medicina Dentária Forense. Pereira, A. Porto: Edição Associação de Estudantes da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, [1994].

Manual de INTERPOL Sobre el Intercambio y la Utilizacion de Datos Relativos al ADN. Schuller, W.; Fereday, L.; Scheithauer R. Recomendaciones del Grupo de Expertos en ADN de Interpol. Primera edición. Lyon: Interpol, [2001].

Manual of forensic odontology. Bowers, C.M.; Bell, G.L. 3rd Ed. Ontario: Manticore Publisher, [1997].

Medicina Legal y Toxicología. Villanueva Cañadas, E. 6a Ed. Barcelona: Masson. S.A., [2004].

Medicina Dentária Forense. Pereira A. 1ª Edição. Porto: AEFMUP, [1994].

Medicina Legal. Fávero, F. 12ª Ed. Belo Horizonte: Vila Rica Editoras Reunidas LTDA, [1991].

Medicina Legal y Toxicología. Calabuig J. 5ª Ed. Barcelona: Masson, S.A., [1998].

Methodological considerations in the forensic applications of human skeletal biology: Biological Anthropology of the human skeleton. Ubelaker, D. Katzenberg: Wiley-Liss Press, [2000].

Métodos modernos de la investigación criminal. Soderman; O'Connell. Bogotá: Editorial LIMUSA, [1992].

Microanalysis and Examination of Trace Evidence in Forensic Science: An Introduction Scientific Investigative Techniques. Kubic, T.; Petraco N. Stuart J. e Nordby J. (eds). Florida: CRC Press LLC, [2003].

MOURA NETO, R.S. - Análise Forense. Rev Panorama Justiça. 9:38 (1998).

NAWROCKI, S. P. Taphonomic Process in Historic Cemeteries. In Bodies os evidence; reconstructing History Through Skeletal Analysis. Ed. Graver. [S.l.]: A. L. Wiley-liss Press, 1995.

O'HARA, P. B., ENGELSON, C. PETER, W. S. - Turning on the Light: Lessons from Luminescence. Journal Of Chemical Education. 82: 1 (2005).

PARIDA, M.; UPADHYAY, C.; SAXENA, P.; DASH, P.; JANA, A.; SETH, P. - Evaluation of a dipstick ELISA and a rapid immunochromatographic test for diagnosis of Dengue virus infection. Acta Virol. 45: 5 (2001) 299-304.

Perícia criminal e Cível. Espíndula, A. 2ª ed. São Paulo: Milenium Editoria, [2006].

PICHINI, S.; PUIG, C.; ZUCCARO, P.; MARCHEI, E.; PELLEGRINI, M.; MURILLO, J.; VALL, O.; PACIFICI, R.; GARCIA-ALGAR, O. - Assessment of exposure to opiates and cocaine during pregnancy in a Mediterranean city : Preliminary results of the Meconium Project. Forensic science international. (2005).

PONCE, A. C., PASCUAL, F. A. V. - Critical Revision of Presumptive Tests for Bloodstains. Forensic Science Communications. 1: 2 (1999). Disponível em: <http://www.fbi.gov/hq/lab/fsc/backissu/july1999/ponce.htm> [acesso a 12 de Maio de 2008].

POTSCH, L. MEYER, U. ROTHSCHILD, S. SCHNEIDER PM, RITTNER C. Application of DNA techniques for identification using human dental pulp as a source of DNA. Int J Legal Med. 105: 3 (1992) 139-43.

PRETTY, I.A., SWEET, D. - A look at forensic dentistry – Part I: the role of teeth in determination of human identity. Br Dent Zool . 190:7 (1990) 359-366.

Principles and Practice of Forensic Science: The Profession of Forensic Science. Inman, K., Rudin, N. Hardcover: CRC Press, [2000].

Principles of Fluorescence Spectroscopy. Joseph R. Lakowicz. [S.l.]: Springer, [1999].

Proceedings of Forensic Science Symposium on the Analysis of Sexual Assault Evidence US Dept. of Justice, [S.l.; s.n.] [1983].

PROESCHER, R. F. - MOODY, A. M.; J. Lab. Clin. Med. 24 (1939) 1183.

Psychology: The Adaptive Mind. Nairne, J. [et. al.]. 2nd Edition. Canada: Thomson Nelson, [2004].

ROBERT R.J. GRISPINO, M.A. - Serological Evidence in Sexual Assault Investigations Special Agent Serology Unit, Laboratory Division FBI Headquarters. *This Article Originally Appeared in the FBI Law Enforcement Bulletin, October 1990.*

ROTHWELL, B. R. - Bite marks in forensic dentistry: a review of legal scientific issues. J Am Dent Assoc. 126 (1995) 223-232.

RUMJANEK, F. D., RINZLER, C. M. C. - Os exames de DNA nos tribunais. Revista Ciência Hoje. 29: 169 (2001).

RUPP, J. - Sperm Survival and Prostatic Acid Phosphatase Activity in Victims of Sexual Assault. J. For. Sci. 14 (1969) 177.

SALIBA, C.; DARUGE, E.; GONÇALVES, R.; SALIBA, T. - Use of panoramic radiographs for age estimation through dental mineralization. ROBRAC. 6: 22 (1997) 14-6.

SATO, I.; SAGI, M.; ISHIWARI, A.; NISHIJIMA, H.; ITO, E.; MUKAI, T. - Use of the “SIMITEST” PSA card to identify the presence of prostate-specific antigen in semen and male urine. Forensic Sci. Int., 25: 127 (2002) 71-74.

SLOBODAN M. J.; SNEZANA V. J. - O controle do crescimento do cabelo. Dermatology Online Journal 4: 2 (1998).

Science vs Crime: The Evolution of the Police Lab. Block, E. San Fransisco: Cragmont Publications, [1979].

SCHWEERS, B.; OLD, J.; BOONLAYANGOOR, P.; REICH, K. - Developmental validation of a novel lateral flow strip test for rapid identification of human blood (Rapid Stain IdentificationTM-Blood), Forensic Sci. Int. Gen. 2 (2008) 243–247.

SHEEHAN, F. X., KOBILINSKY, L. - Human Blood Identification: A Forensic Science Approach. Journal Of Chemical Education. 61: 6 (1984).

Silent Witness: How Forensic Anthropology is used to solve the world's toughest crimes. Fernelli, R. U.S.A.: Firefly books Inc., [2002].

SLAVKIN, H.C. - Sex, enamel and forensic dentistry : a search for identity. J Am Dent Assoc. 128 (1997) 1021-1025.

SOUKOSA, N.; CROWLEYB, K.; BAMBERGA, M.; GILLIESA, R.; DOUKASA, A.; EVANSB, R.; KOLLIASA, N. - A rapid method to detect dried saliva stains swabbed from human skin using Fluorescence spectroscopy. Forensic Sci. Int. 114 (2000) 133-138.

Sourcebook in Forensic Serology, Immunology and Biochemistry. Gaensslen, R.E. National Institute of Justice, [S.l.; s.n.] [1983].

STEVANI, C. V., BAADER, W. J. - O sistema quimiluminescente peróxioxalato. Química Nova. 22: 5 (1999).

SWEET, D.; LORENTE, M.; VALENZUELA, A.; LORENTE, J.A.; ALVAREZ, J.C. - Increasing DNA extraction yield from saliva stains with a modified Chelex method. Forensic Sci. Int. 83 (1996) 167-177.

SWEET D.; HILDEBRAND D. - Saliva from cheese bite yields DNA profile of burglar: a case report. Int J Legal Med. 112 (1999) 201-203.

Técnica policial. Barberá, F.; Turegano, J. Valência: Editorial T. Blanch, [1991].

TEIXEIRA, W.R.G. - Hymenal colposcopic examination in sexual offenses. The American J Forens Med and Pathol. 2: 3 (1981) 209-15.

TEIXEIRA, W.R.; PACCA, G.J.P.; LIMA, L.; TEIXEIRA, C.M.P.; OLIVEIRA, P.M.A. - Um moderno enfoque médico para o estupro. Revista de Ginecologia e Obstetrícia. 9: 2 (1998a) 82-87.

TEIXEIRA, W.R.G.; PACCA, G.J.P.; LIMA, L.; TEIXEIRA, C.M.P.; OLIVEIRA, P.M.A. - Técnica de coloração *Christmas tree* para o achado de espermatozóides em amostras de vítimas de estupro. Laes

& Haes. 113 (1998) 120-128.

The Crime Scene: Criminalistics, Science and Common Sense. Greenshields, M.; Scheurman, G. Toronto: Pearson Education Canada Inc., [2001].

The Encyclopedia of Forensic Science. Lane, B. Londres: Headline Book Publishing Inc., [1992].

THOROGATE, R.; MOREIRA, J.; JICKELLS, S.; MIELE, M.; DANIEL, B. - A novel fluorescence-based method in forensic science for the detection of blood *in situ*. Elsevier Ireland Ltd. Forensic Science International: Genetics 2 (2008) 363–371.

Trace Evidence: Forensic Evidence in Canada. Crocker, J. 2nd Ed. Chayko, G. e Gulliver, E. (eds.) Aurora: Canadian Law Books Inc.ON, [1999].

TUMOSA, C. S. - A Potential Source of Difficulty in the Initial Testing for Blood. Forensic Science Communications. 6: 4 (2004). Disponível em: http://www.fbi.gov/hq/lab/fsc/backissu/oct2004/technote/2004_10_note01.htm [acesso a 18 de Agosto de 2008].

VILLANUEVA CAÑADAS, E. ACOSTA, M. ACOSTA J.- La tecnología del ADN en Medicina Forense: Importancia del indicio y del lugar de los hechos. Cuadernos de Medicina Forense. 3 (1996).

WHITTAKER, D.K., LLEWELYN, D.R., JONES, R.W. - Sex determination from necrotic pulpal tissue. Br Dent J. 139 (1975) 403-405.

WALKER, P. L.; JOHNSON, J. R.; LAMBERT, P. M. - Age and sex biases in the Preservation Human Skeletal Remains. American Journal of Physical Anthropology. 76: 183 (1995).

WATKINS, M. D.; BROWN, K. C. - Blood Detection. Disponível em: www.bluestar-forensic.com [acesso a 23 de Outubro 2008].

WILSON C.; SUN T.; LAVKER R. - Cells in the bulge of the mouse telogen follicle give rise to the lower anagen follicle. Skin Pharmacol; 7 (1994) 8-11.

YU, C.; GESTL, E.; ECKERT, K.; ALLARA, D.; IRUDAYARAJ, J. - Characterization of human breast epithelial cells by microspectroscopy. Cancer Detection and Prevention. 30 (2006) 515-522.

YOUNG, A.R. - Chromophores in human skin. Phys Med Biol. 42 (1997) 789-802.

Considerações finais

Nesta Dissertação foi feito um apanhado geral de conceitos teóricos formulados por investigadores e especialistas a respeito das metodologias de detecção de vestígios biológicos forenses, respondendo ao objectivo inicial apresentado na Introdução.

A apresentação sobre a Ciência Forense (Capítulo1) abrangeu uma visão geral do seu conceito, princípios e áreas de actuação bem como uma breve resenha histórica. Assim, pode-se dizer que a Ciência Forense tem uma vasta história, que foi evoluindo ao longo dos tempos com o desenvolvimento das outras ciências, uma vez que se trata de uma ciência algo subjectiva, que se move pelas áreas de acção da Biologia, da Química, da Bioquímica, entre outras.

O papel do cientista forense é fundamental desde as perícias no local do crime até à emissão do Relatório Pericial. Depende do seu desempenho a valorização do vestígio encontrado na cena do crime como prova em Tribunal. Assim, este profissional deve ter sempre em mente a manutenção da Cadeia de Custodia, bem como os procedimentos correctos de colheita, armazenamento e preservação dos vestígios. Os seja, deve seguir o Protocolo de procedimentos de exame da cena do crime (Capítulo 2).

O Capítulo 3 desenvolve todo o objectivo desta Dissertação, onde se descrevem os vários métodos ou técnicas usados nas perícias forenses. Assim, pode-se dizer que as análises forenses se baseiam sobretudo nas técnicas e métodos da Imunologia, Química, Bioquímica, bem como na Microscopia, Cristalografia, Cromatografia, Fluorescência, Fosforescência entre outros. Uma amálgama de princípios de técnicas que são adaptadas das outras ciências para ser possível a sua utilização na área forense, uma vez que a amostragem é bastante diferente da das outras ciências. As amostras forenses são normalmente escassas, degradadas e com origem desconhecida, estas condições dificultam o seu manuseamento, obrigando a outro tipo de cuidados.

De uma forma geral, independente do vestígio em causa, as técnicas referidas são utilizadas em exames presuntivos ou de orientação, confirmatórios e finalmente, teste de identificação ou origem. Genericamente é este o percurso que as amostras seguem para a sua detecção e identificação, com o objectivo maior que é a reconstituição e resolução do acto criminoso.

O sangue, o sémen, os pêlos e a saliva são dos vestígios biológicos forenses

detectados com maior frequência numa cena de crime. Por este facto aparecem com maior destaque. O seu processamento laboratorial implica análises complexas, que demoram o seu tempo mas que normalmente permitem a obtenção de resultados conclusivos.

Existem ainda outros vestígios biológicos igualmente importantes na resolução de crimes. São exemplos os dentes e ossos, vestígios que mais resistem à deterioração normal no processo *post mortem*. A urina, fezes, mecónio, material fetal, fluído vaginal, leite e colostro são outros vestígios detectados em vários tipos de crimes, e embora em menor frequência podem ser de crucial importância no âmbito da investigação criminal.

Actualmente, alguns destes testes vão caindo em desuso, muito por causa da mais recente tecnologia de Biologia Molecular, em que é possível a determinação precisa e específica do perfil genético da amostra e assim compara-la com os perfis dos suspeitos e vítimas possibilitando a identificação de forma inequívoca do agente causador do crime. Mas a importância destes testes é imensa na prática forense e justifica a sua utilização pelas suas inúmeras vantagens. São testes mais simples, rápidos, económicos, que permitem a obtenção de resultados por vezes imediatos facilitando o desenvolvimento das técnicas de biologia molecular, ou seja podem até ser vistos como testes iniciais de triagem com o objectivo final da identificação genética.

Assim, faz todo o sentido a sua utilização na prática forense. A sua exploração é uma enorme mais-valia para a resolução de crimes.

